

36 非コードRNA異常産生を防ぐ転写終結機構の解明	野島 孝之
----------------------------	-------

【目的】 ゲノムのダークマターと呼ばれる非コード RNA (noncoding RNA : ncRNA) の発見から現在まで、機能が明らかでない ncRNA はほんの一握りである。最近その中で、哺乳類細胞ががん化した場合や特定のストレス下に置かれた場合において、RNA 転写の終結が破綻し、遺伝子間領域でリードスルー転写産物と呼ばれる ncRNA が産生されることがわかってきた (下図)。しかしながら、哺乳類細胞の転写終結は複雑であり、未だにその制御機構には不明な点が多い。そこで本研究では、がんでは破綻している転写終結機構を明らかにすることを目的とする。また、化学物質等によって誘導される未成熟転写終結 (遺伝子イントロン内で転写が終結すること) の制御機構も明らかにしようとしている (下図)。さらには、がんや細胞ストレスによって誘導される ncRNA を網羅的に同定することで、将来的に人工 ncRNA やそれに由来するペプチドを利用したり、ncRNA を標的とした新たな治療アプローチの開拓を目指す。

【方法】 本研究では、がん細胞や化学物質処理した細胞の転写プログラムを、独自に開発した新生 RNA シークエンス技術 POINT (Polymerase-Intact Nascent Transcript) 法にて解析し、転写終結に注目した研究を行った。まず、TCGA に収録されたがん転写産物の解析により、大腸がんを高発現している遺伝子として *NELF* (Negative elongation factor) に注目した。次に、共同研究者 (Ali Shilatifard 研究室) から分与された、オーキシシン依存的 *NELF* タンパク質分解誘導大腸がん細胞 (HCT116 *NELF*-C-AID) を用いて、POINT 法解析を行った。さらには、がんでは頻繁に変異しているヒストンメチル基転移酵素遺伝子 *SETD2* に注目し、そのタンパク質発現や活性を失った細胞を用いたり、化学物質処理 (DNA 架橋剤) による転写プログラムの影響も POINT-seq 法解析した。それらのシークエンスデータは、バイオインフォマティクスにより統計学的に解析した。

【結果】 本研究では、公共がん RNA-seq データを再解析し、がんにおける転写関連因子の RNA 発現を調べた。その結果、転写伸長因子として知られている *NELF* の転写産物が大腸がんでは有意に高発現していることが明らかになった。さらに、*NELF* 発現抑制時に転写終結破綻が起きていること、その破綻が DNA 複製開始反応の抑制、それに伴う細胞周期の停止が引き起こされることが明らかになった (プレプリント Nakayama et al., *BioRxiv* 2024)。また、クロマチン環境変化がどのように転写へ影響するのかも調べた。本研究では、複数のがんでは機能を失っている *SETD2* に注目し、転写における機能解析を行った。その結果、*SETD2* ノックアウト (KO) 細胞やメチル基転移活性を失った腎臓がん患者由来細胞では、転写終結の破綻が起きていることが明らかになった (論文投稿準備中)。本研究ではさらに、DNA 架橋剤によって、未成熟転写終結が誘導されることを見出した。これは、以前報告したスプライシング阻害剤によって誘導される未成熟転写終結機構とは異なるもので、今後の研究展開が期待される。

転写終結破綻と未成熟転写終結から生じる ncRNA

