

**【目的】** mRNA 前駆体 (pre-mRNA) の選択的スプライシングは、単一遺伝子から多様なタンパク質を作り出す機構であり、限られた数の遺伝子からタンパク質発現の多様性を生み出すための最も重要な機構の一つである。複数のエクソンを有する遺伝子の、実に 95%以上が選択的スプライシングによる複数のアイソフォームを有しており、生物学的に非常に重要な役割を果たしていると考えられているが、皮膚組織における選択的スプライシングの役割はほとんどわかっていなかった。皮膚は体表面積の大半を占める人体最大かつ最外層に位置する臓器であり、体外からの刺激から体を守ると共に、体内からの水分喪失を防ぐなどの働きがある。表皮と真皮から構成されており、外層にあたる表皮は表皮角化細胞が基底層から徐々に押し上げられて有棘層、顆粒層、角層へと分化していく。著者らは先行研究において、表皮角化細胞の分化する過程で多くの選択的スプライシングイベントが起きており、それらは RNA binding protein の結合により制御されていることを明らかにしていた。本研究の目的は、選択的スプライシングが表皮角化細胞分化に及ぼす影響を解明すること、また RNA binding protein の関与を明らかにすることである。

**【方法】** 1. 選択的スプライシングイベントの同定・解析と phenotype の確認：著者は先行研究において、表皮角化細胞の分化の前後における選択的スプライシングに大きな変化のある遺伝子、タンパクの情報とすでに取得しており、それらの validation を行った。またそれぞれのアイソフォームがどのような仕組みで表皮角化細胞の分化を誘導しているか、解析を行った。同定した選択的スプライシングの phenotype の確認にはアイソフォーム特異的ノックダウンを行い、分化に異常が生じるか確認した。ノックダウンには shRNA や siRNA といった RNA 干渉を用い、評価は Realtime PCR 法で行った。また 3 次元培養表皮を作製し、各種染色を行った。2. RNA binding protein の同定とノックダウン実験：著者がすでに取得していた表皮角化細胞の分化に関与していると思われる RNA binding protein のノックダウン実験を行い、選択的スプライシングに変化が出るか、分化異常が生じるか、Realtime PCR 法や 3 次元培養表皮を用いて確認した。

**【結果】** 1. 選択的スプライシングイベントの同定・解析と phenotype の確認：MAP3K7 遺伝子において、分化の前後で exon12 が skip されていることがわかった。そこでアイソフォーム特異的なノックダウンを行い phenotype の解析を行ったところ、分化異常を生じることがわかった。3 次元培養表皮でも同様に分化異常が生じることがわかった。2. RNA binding protein の同定とノックダウン実験：FUS (RNA binding protein) を対象にノックダウン実験を行ったところ、選択的スプライシングイベントが増加した。また 3 次元培養表皮を作製したところ分化異常を認めた。

### 選択的スプライシングと RBP

