

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		正確な遺伝子発現を保証するスプライシングチェックポイント機構の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Study on a splicing check point which ensures the integrity of the transcriptome			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)カイダ	名)ダイスケ	研究期間 B	2011 ~ 2013 年
	漢字 CB	甲斐田	大輔	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	KAIDA	DAISUKE	研究機関名	富山大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		富山大学 先端ライフサイエンス拠点 特命助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>我々は真核生物における転写後修飾の一つである mRNA スプライシングが転写活性に与える影響に興味を持ち研究を行った。HeLa 細胞をスプライシング阻害剤であるスプライソスタチン A (SSA) で処理し、トランスクリプトーム変化をエキソアレイで調べたところ、約18%の遺伝子において遺伝子5'末端と比較して3'末端の発現量が低下していることが明らかとなった。また、細胞を SSA で処理すると、濃度依存的、時間依存的にスプライシングが阻害されるが、この3'末端の発現低下も同様のパターンを示した。さらには、SSA を処理したのち、培地から SSA を除きスプライシング活性を回復させると、3'末端の発現低下も解消することがわかった。すなわち、スプライシング活性の低下が3'末端の発現低下を引き起こしていると考えられる。最近の研究から、スプライソソームの構成因子である U1 snRNP を機能阻害すると、pre-mRNA が転写途中で異常な切断とポリ A 化を受けることが明らかとなった。そこで、SSA 処理細胞中でも同様の現象が起こり、その結果3'末端の発現低下が観察されるのではないかと考え実験を行なったが、pre-mRNA の異常な切断とポリ A 化は観察されなかった。そこで、SSA 処理細胞中では転写伸長に異常があるのではないかと考え、転写伸長に重要な RNA ポリメラーゼ II (Pol II) のリン酸化レベルを調べたところ、SSA 処理により Pol II のリン酸化が低下していることが明らかとなった。すなわち、SSA 処理によるスプライシング阻害により転写伸長に必要な Pol II のリン酸化が阻害され、その結果、スプライシングを受けていない異常な pre-mRNA の蓄積を防ぐといういわゆるチェックポイントメカニズムが存在することが明らかとなった。この結果をまとめ、現在論文投稿中である。</p>					
キーワード FA	スプライシング	転写	スプライソスタチン A	RNA ポリメラーゼ II	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Pre-mRNA in eukaryotes is subjected to post-transcriptional modifications, such as capping, polyadenylation, and splicing. Transcription and post-transcriptional modifications are coupled, and this coupling stimulates post-transcriptional modifications; however, the effects of post-transcriptional modifications on transcription are not fully understood. In this study, we found that inhibition of U2 snRNP by a splicing inhibitor, spliceostatin A (SSA), and antisense morpholino oligonucleotide to U2 snRNA caused gene-specific 3'-end down-regulation. We also found that U2 snRNP inhibition resulted in the dephosphorylation of second serine residues (Ser2) within heptad repeats of the RNA polymerase II (Pol II) C-terminal domain (CTD), which is important for transcription elongation, and that this dephosphorylation was correlated with splicing inactivation. Removal of SSA from the culture media restored the Ser2 phosphorylation and expression of the 3' ends of genes, suggesting that transcription elongation had resumed. These findings suggest that a novel checkpoint mechanism prevents accumulation of pre-mRNA as a result of splicing deficiencies, and the production of aberrant proteins that might be translated from pre-mRNA, through the dephosphorylation of CTD Ser2.