

## 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		Msi1による多階層性 RNA 制御プログラムによる神経幹細胞機能の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of neural stem cell function through Msi1 dependent multiple layer of RNA regulation			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)ヤノ	名)マサト	研究期間 B	2015年 ~ 2017年
	漢字 CB	矢野	真人	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Yano	Masato	研究機関名	新潟大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		新潟大学大学院医歯学総合研究科・准教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>in vivo 蛋白質-RNA 相互作用検出法、HITS-CLIP により、神経幹細胞に強く発現する RNA 結合蛋白質 Musashi1 (Msi1) の胎生期マウス脳における Msi1-RNA 相互作用のゲノムマッピングを行い、Msi1 の RNA 制御メカニズムおよび生体内における役割に迫ることを目的とした。In vivo における Msi1 と相互作用している標的 RNA を同定するため、UV 照射したマウス胎児脳の抽出液より Msi1 を認識する抗体を用い Msi1 欠損マウスをネガティブコントロールとした、HITS-CLIP ライブラリーを次世代シーケンサーにより解読した。得られた配列情報をバイオインフォマティクス解析により、再現性、信頼性の高い Msi1-RNA 相互作用部位、約 16,000 部位の同定に成功した。これらの結合部位は、特に 3' 非翻訳領域に多く存在する一方で、Coding エクソン、イントロンや intergenic 領域といった様々な部位に Msi1 結合部位がみられた。さらに、CIMS 解析を合わせ 1 塩基解像度レベルで Msi1-RNA の相互作用部位を検出した結果、従来 in vitro で明らかとなった結合配列と同等な配列情報が得られた。さらに、標的遺伝子群を 1000 近く同定し、これらが前脳発生に重要な分子群と関連性が強いことが GO 解析により明らかとなった。Msi1 の分子機能について、従来翻訳抑制因子としてその分子メカニズムが明らかとなっており、本研究において多くの神経発生制御に関わる新規標的遺伝子について翻訳抑制機能を有する事が確かめられた。また、従来の分子機能に加え、様々なゲノム領域における Msi1 の HITS-CLIP マッピングにより、従来の翻訳抑制制御だけでなく新たに 3 つの新規機能を持つ事を明らかにした。それぞれの機能が Msi1-RNA 相互作用依存的である事を、Msi1 欠損マウス、初代培養系を用いることで証明した。</p>					
キーワード FA	RNA 結合蛋白質	HITS-CLIP	神経幹細胞	転写後調節	

(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 <sup>GB</sup>	An RNA-binding protein Qki5 regulates embryonic neural stem cells through pre-mRNA processing in cell adhesion signaling								
	著者名 <sup>GA</sup>	Hayakawa-Yano Y, Suyama S, Nogami M, Yugami M, Koya I, Furukawa T, Zhou L, Abe M, Sakimura K, Takebayashi H, Nakanishi A, *Okano H, and *Yano M	雑誌名 <sup>GC</sup>	<i>Genes &amp; Development.</i>						
	ページ <sup>GF</sup>	1910~1925	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	31	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	RNA Regulation went wrong in neurodevelopmental disorders: the example of Msi/Elav RNA binding proteins								
	著者名 <sup>GA</sup>	Yano M* Hayakawa-Yano Y and Okano H*	雑誌名 <sup>GC</sup>	<i>Int J Dev Neurosci.</i>						
	ページ <sup>GF</sup>	124~130	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	6	巻号 <sup>GD</sup>	55	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>									
	著者名 <sup>GA</sup>			雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>		
図書	著者名 <sup>HA</sup>									
	書名 <sup>HC</sup>									
	出版者 <sup>HB</sup>			発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>									
	書名 <sup>HC</sup>									
	出版者 <sup>HB</sup>			発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

To investigate roles of neural stem cell factor Msi1 in the developing brain, we performed high-throughput sequencing and cross-linking immunoprecipitation (HITS-CLIP) analysis to identify Msi1 protein-RNA interaction in vivo using E14.5 mouse brains for material. After UV irradiation, Msi1-RNA complexes are purified with anti-Msi1 antibody from three independent embryonic brains and final RNA products were sequenced after library generation. Msi1-HITS-CLIP revealed that Msi1 binds to robust RNA binding regions containing specific in vivo RNA motifs at the 1nt resolution, identified by CIMS (Cross-link induced mutation site) assay. They are very consistent with Msi1's in vitro RNA binding motifs, previously reported by in vitro SELEX and NMR based structural studies. And interestingly Msi1 binding sites are located in not only 3' UTR but also intronic, exonic, intergenic sequence and non-coding RNA. Also we validated novel in vivo Msi1 RNA targets, most of which are enriched in biological term, forebrain development by Gene-Ontology analysis and are regulated at the translational level when Msi1 binds to 3' UTR sites of targeted RNAs as previously elucidated (Msi1 canonical function). In addition, by transcriptome-wide Msi1-RNA interaction map, we found the novel functional rule of Msi1 in various RNA processes including non-coding RNA and alternative splicing, validated in null mutant mice and gain of function study.