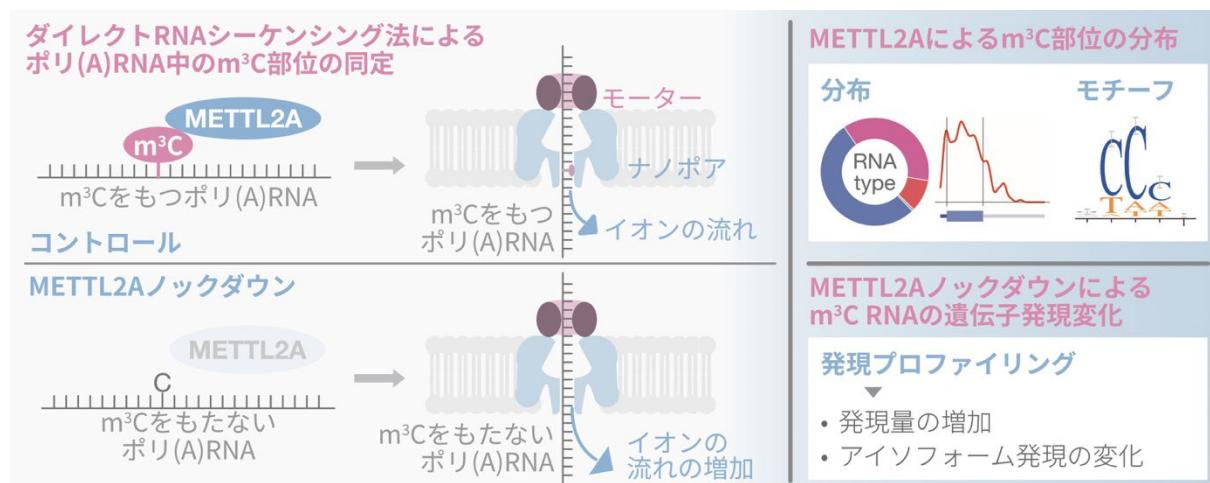


東京大学  
旭川医科大学

## 遺伝子発現の新たな制御因子の同定 — $m^3C$ 修飾のポリ (A) RNA 中での機能を発見 —

### 発表のポイント

- ◆  $m^3C$  修飾を RNA に導入する酵素 METTL2A の発現が膵がん組織で上昇し、その高発現が予後不良と関連することを明らかにしました。また、METTL2A が膵がん細胞の増殖を制御していることを示しました。
- ◆ ダイレクト RNA シーケンシング法を用いて、ポリ (A) RNA 中での METTL2A 依存的な  $m^3C$  修飾の分布を明らかにし、この修飾が遺伝子発現制御に関与していることを見出しました
- ◆ 本研究は、RNA 修飾を標的とした創薬やがん治療法の開発への貢献が期待されます



ダイレクト RNA シーケンシング法による、ポリ (A) RNA 中での  $m^3C$  修飾の分布と遺伝子発現制御機能の解明

### 概要

東京大学アイソトープ総合センターの秋光 信佳 教授、谷上 賢瑞 特任准教授、光富 修平 客員研究員、東京大学大学院新領域創成科学研究科の鈴木 穂 教授、関 真秀 特任准教授、旭川医科大学内科学講座の水上 裕輔 教授、高橋 賢治 講師らによる研究グループは、RNA の化学修飾の一つである 3-methylcytidine ( $m^3C$ 、注 1) 修飾が、ポリ (A) RNA (注 2) 中でどのように分布し、遺伝子発現制御に関与しているかを明らかにしました。

$m^3C$  はシチジンのメチル化修飾であり、主に転移 RNA (tRNA、注 3) に存在して翻訳制御に関わることが知られています。しかし、伝令 RNA (mRNA、注 4) を含むポリ (A) RNA 中での分布や機能はこれまで不明でした。本研究では、 $m^3C$  修飾を導入する酵素遺伝子の発現を様々な観点で解析し、膵がんにおいてメチル化酵素 METTL2A の発現が上昇し、その高発現が患者の予後不良や膵がん細胞の増殖促進と関連することを発見しました。さらに、METTL2A 依存的な  $m^3C$  修飾部位が、ポリ (A) RNA のコード配列 (注 5) および CC モチーフに多く存在し、この修飾が遺伝子

発現を制御していることを明らかにしました。本研究は  $m^3C$  修飾を標的とした創薬やがん治療法の開発に貢献することが期待されます。

## 発表内容

RNA 中の化学修飾（注 6）が遺伝子発現制御・翻訳制御などを介して、がんを始めとした疾患発生に関連していることが明らかになってきています。シチジン（C）のメチル化修飾の一つである  $m^3C$  は、主に tRNA で見られ、翻訳制御に関わることが知られています。一方で、 $m^3C$  は mRNA を含むポリ（A）RNA 中にも微量に存在することが報告されていますが、ポリ（A）RNA 中で（1）どのように分布しているのか、（2）どのような機能を有しているのかは不明でした。

本研究ではまず、 $m^3C$  修飾を導入する 4 つの  $m^3C$  writer（注 7）遺伝子の発現を多様ながん種で網羅的に解析し、膵がんにおいてメチル化酵素 METTL2A の発現が亢進し、その高発現が患者の生存期間と関連することを見出しました。また、METTL2A は膵がん細胞の増殖を制御していることを明らかにしました。

さらに、RNA を直接読み取る技術であるダイレクト RNA シーケンシング法（注 8）と siRNA（注 9）を用いた METTL2A の発現抑制を組み合わせた解析により、METTL2A 依存的な  $m^3C$  修飾部位とそれが遺伝子発現に及ぼす影響を網羅的に解析しました。結果、METTL2A 依存的な  $m^3C$  修飾部位は、ポリ（A）RNA 中のコード配列に多く存在し、特に CC モチーフに集中しているを見出しました。さらに、（1）METTL2A 依存的  $m^3C$  修飾部位を持つ RNA の多くが、METTL2A ノックダウンにより発現量が増加すること、（2）S100A4 遺伝子から転写される RNA において、 $m^3C$  部位近傍のアイソフォーム発現（注 10）が変化することを見出しました。これらの結果から、mRNA 中の  $m^3C$  が遺伝子発現を制御していることが示唆されました。

本研究は、メチル化酵素 METTL2A や  $m^3C$  修飾を標的とする新たな薬剤やがん治療法の開発に加え、RNA 修飾の機能解明に貢献することが期待されます。

## 発表者・研究者等情報

東京大学

アイソトープ総合センター

秋光 信佳 教授

谷上 賢瑞 特任准教授

光富 修平 客員研究員

研究当時：東京大学特別研究員/日本学術振興会特別研究員-PD

現：国立がん研究センター研究所/日本学術振興会特別研究員-PD

大学院新領域創成科学研究科

鈴木 穎 教授

関 真秀 特任准教授

旭川医科大学

内科学講座消化器内科学分野

水上 裕輔 教授

高橋 賢治 講師

## 論文情報

雑誌名 : *Genome Research*

題名 : Nanopore direct RNA sequencing reveals METTL2A-mediated m<sup>3</sup>C sites in poly(A) RNA

著者名 : Shuhei Mitsutomi, Anzu Sugawara, Masahide Seki, Yutaka Suzuki, Sotaro Miyao, Haozhe Du, Kenji Takahashi, Yusuke Mizukami, Kenzui Taniue, and Nobuyoshi Akimitsu

## 研究助成

本研究は、科研費「RNA品質管理機構によるイントロン-エクソン化RNA生成と癌維持機構への関与(課題番号:21K19402)」、「lncRNA-RBP複合体によるユビキチン-プロテアソーム制御機構(課題番号:21H02758)」、「ヒト細胞における新しい物理化学的ストレス感知・応答機構の解明と癌治療への応用(課題番号:21H04792)」、「膵癌オルガノイドを用いた構造異常RNAの探索と機能解析(課題番号:22KK0285)」、「先進ゲノム解析研究推進プラットフォーム(課題番号:22H04925)」、「膵癌における新規円柱状構造体の形成を介したRNAメチル化制御機構の解明(課題番号:22KJ0965)」、「生殖ライフスパンにおけるRNAキネティクス計測(課題番号:23H04955)」、「RNAダイナミクスリコーディング法開発とRNA制御ネットワーク特性の解明(課題番号:23K18108)」、「m3C修飾による翻訳制御機構解明(課題番号:24KJ2206)」、「m3C修飾によるRNA分解と癌維持機構への関与(課題番号:24K22066)」、上原記念生命科学財団、武田科学振興財団、小林財団、MSD生命科学財団、内藤記念科学振興財団などの支援により実施されました。

## 用語解説

(注 1) m<sup>3</sup>C 修飾

3-メチルシチジン。RNA修飾のひとつ。主にtRNAで見られ、RNAからタンパク質への翻訳を制御する。mRNA中にも微量に存在することが明らかになっていたが、その分布と機能は不明であった。

(注 2) ポリ(A)RNA

3'末端に連続するアデニンヌクレオチドであるポリ(A)鎖を持つRNA。mRNA、ミトコンドリアmRNA、ミトコンドリアrRNAなどが含まれる。

(注 3) 転移RNA(tRNA)

Transfer RNA。mRNAからタンパク質が合成される際に、mRNA上の遺伝暗号に対応するアミノ酸を転移するアダプター分子として機能する。

(注 4) 伝令RNA(mRNA)

タンパク質をコードするRNA。mRNAの発現量が制御されることで、下流のタンパク質発現量と生命現象が制御される。

(注 5) コード配列

mRNAの配列のうち、タンパク質のアミノ酸配列を決定する塩基配列のこと。

(注 6) RNA中の化学修飾

タンパク質をコードする RNA。mRNA の発現量が制御されることで、タンパク質の発現量も制御される。

(注 7)  $\text{m}^3\text{C}$  writer

tRNA に m3C 修飾を「書き込む」機能が知られているタンパク質。ヒトでは、METTL2A, METTL2B, METTL6, METTL6 の 4 種類のタンパク質が知られており、異なる tRNA を修飾する。

(注 8) ダイレクト RNA シーケンシング法

ナノポアシーケンサーを利用して、RNA を直接するシーケンス技術。RNA がナノポアを通過する際に電流の変化が生じる。

(注 9) siRNA

低分子干渉 RNA。特定の標的 mRNA を分解することで、特定のタンパク質の産生を抑制する短鎖の 2 本鎖 RNA 分子。

(注 10) アイソフォーム発現

1 つの遺伝子から、エキソンの組み合わせや長さが異なる複数の異なるアイソフォーム mRNA が生成される。これにより、1 つの遺伝子から異なる機能を持つ複数種のタンパク質・RNA が作られる。アイソフォームの切り替えが、生命機能や疾患発症と関連することが明らかになってきている。

## 問合せ先

〈研究内容について〉

東京大学アイソトープ総合センター

教授 秋光 信佳 (あきみつ のぶよし)

Tel: 03-5841-2877 E-mail: akimitsu@ric.u-tokyo.ac.jp

特任准教授 谷上 賢瑞 (たにうえ けんずい)

Tel: 03-5841-2877 E-mail: kenzui@ric.u-tokyo.ac.jp

〈機関窓口〉

東京大学アイソトープ総合センター 庶務係

Tel: 03-5841-2881 E-mail: syomu.ric@gs.mail.u-tokyo.ac.jp

旭川医科大学総務課広報・社会連携係

Tel: 0166-68-2118 E-mail: kouhou@asahikawa-med.ac.jp