

Press Release

京都大学 物質-細胞統合システム拠点
独立行政法人 日本学術振興会
国立研究開発法人 科学技術振興機構

生きたマウス脳内の細胞内 RNA 活動の可視化に成功 -早くて正確な製薬時のスクリーニングなど応用に期待-

京都大学（総長：山極壽一）物質-細胞統合システム拠点（iCeMS-アイセムス）の王丹特定拠点助教らの研究グループは、生きたマウスの脳において特定の RNA を蛍光標識し、その細胞内での局在や、薬剤応答動態を可視化することに成功しました。

細胞内で、RNA はそれぞれ独自の局在を示しながら機能しています。この局在は環境変化や疾患によって変化しますが、局在変化によって、RNA は本来の機能を果たせなくなり、細胞の健康状態が損なわれてしまうと考えられています。しかしながら、RNA の集まりがどのように細胞の中で制御されているのか、どのようにして異常がもたらされるかは未だ解明されていません。

研究グループは、生きたマウスの脳内へ、生体に害のない点灯型蛍光プローブを導入することで、生きた組織において細胞核内の特定の RNA の動きを可視化することに成功しました。このプローブは、目的 RNA の濃度によって蛍光の強さが変わるため、生体内で標識した RNA の定量的な評価にも応用できます。また、このイメージング手法により、薬剤を投与したときの細胞内での RNA の動きが生体組織内の細胞と培養された細胞とで異なることが初めて定性的に示されました。新しいイメージング手法は、遺伝子操作を必要としない生体内での RNA の集まりの出現や消失といった「RNA 本来の振る舞い」を研究する手法として期待されます。さらにこれにより、製薬時のスクリーニングを早く、正確に行うことにも役に立ちます。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金「挑戦的萌芽研究」および「若手研究（A）」、日本分子生物学会若手研究助成富澤純一・桂子基金第二回研究助成、革新的研究開発推進プログラム

（ImPACT）「セレンディピティの計画的創出」の支援を受けて行われました。本研究成果は 2015 年 6 月 19 日（金）午前 10 時（日本時間 19 日午後 6 時・20 日朝刊）に英国の科学雑誌「Nucleic Acids Research」において公開されました。

1. 背景

RNA (※1) は体内で働くタンパク質がいつ、どこで、どれだけ必要なのかという情報を持つほか、細胞内で生体反応の制御を行うこともある、重要な働きを担っている分子です。生体内で目的遺伝子がどのように機能しているかを知るためには、この RNA が細胞内のどこでどのように局在しているのかを突き止めることが重要です。細胞核内において、RNA が集まり、局在するという現象は正常な細胞でも起きますが、一部の神経変性疾患において異常な集まりがあることが観察されており、この局在変化によって本来の RNA 機能を果たせず、神経細胞の健康状態が破たんしてしまうと考えられています。しかしながら、生きた組織内でその局在を見るのは困難とされてきたため、RNA の集まりがどのように細胞内で制御されているのか、どのようにして異常がもたらされているかは明らかにされていませんでした。近年の遺伝子改変技術を用いて、少しずつその様子が明らかになってきましたが、遺伝子改変を伴うこれらの方法では、本来の RNA の動きや変化を見ることはできません。今回の研究は遺伝子改変を必要としない新しい RNA 研究手法を開発するために行われました。

2. 研究内容と成果

生体に害のない、目的 RNA の有無によって蛍光のオン・オフができる点灯型蛍光プローブ (※2) を脳内に打ち込み、電流を流して細胞内に導入することで、生きた組織内での RNA の標識を可能にしました (図 1)。この標識法は遺伝子改変を必要としない方法なので、見たい RNA の本来の動き・振る舞いを見ることができるようになりました。このプローブは目的 RNA の濃度によって明るさが変わるので、蛍光の強さを比較することで定量的な評価を行うことも可能となりました。

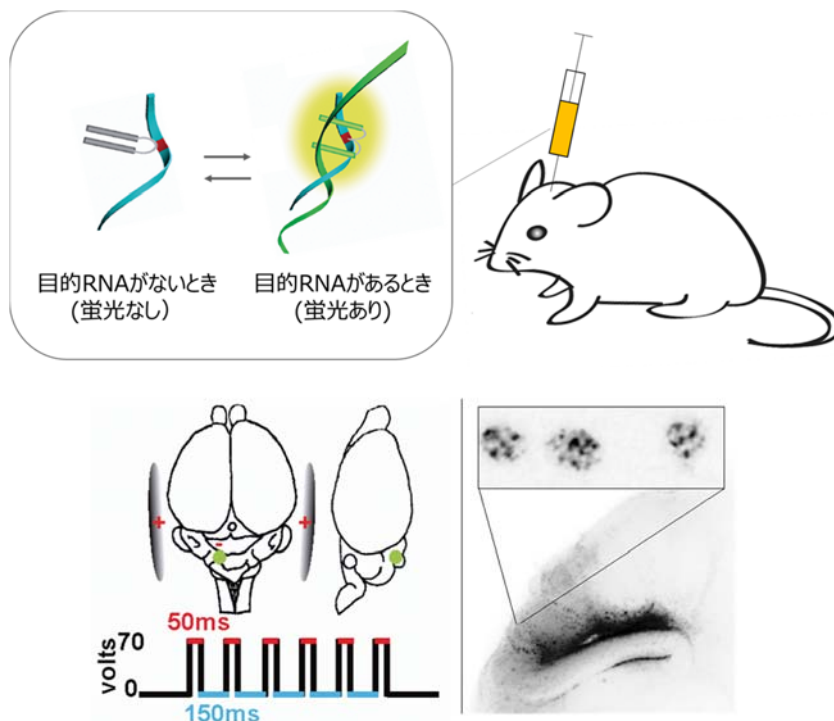


図 1 新しい標識法の概要。目的 RNA の有無により、蛍光のオン・オフができるプローブを組織に打ち込み、電流を流すことで、細胞内にプローブを導入する。この標識法で、今まで

見えなかった生きた組織内での細胞内 RNA の集まりが観察できるようになった。右下の図では、小脳の細胞核内で顆粒状に局在する RNA の様子が示されている。

次に、この標識方法を用いて、組織内の RNA の集まりが薬剤に対してどう応答するのか検証しました。DNA の転写を阻害し、RNA 量を減らす薬剤を投与すると、ディッシュ内で培養した細胞では核内 RNA 顆粒 (※3) の大きさの減少に伴う顆粒内の目的 RNA の濃度の増加が観察されましたが、生きた組織内の細胞ではそのような変化は見られませんでした (図 2)。研究グループはこのように、これまで感覚的にしか判断できなかったディッシュ内で培養された細胞と生きた組織内の細胞の RNA 反応の変化の違いを初めて定性的に示すことに成功しました。

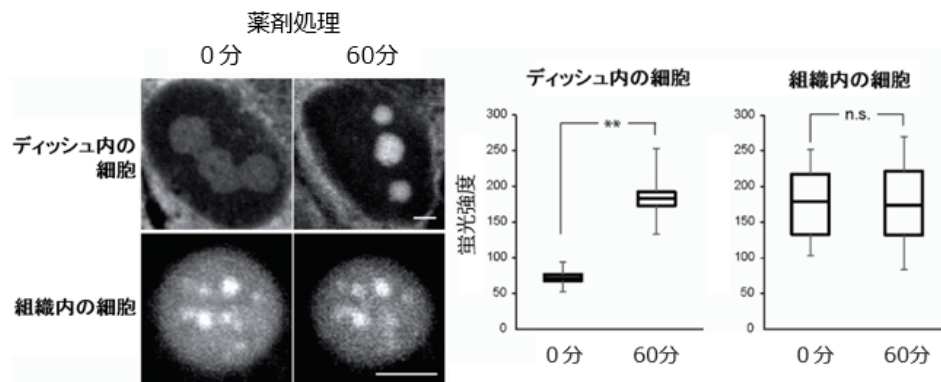


図 2 新しいイメージング法によって、ディッシュで培養した細胞と組織内の細胞とでは薬剤応答の様子が異なることがわかった。

3. 今後の展開

本研究により、生きた組織内の細胞で、生体機能を阻害しない本来の RNA 活動の可視化が可能になりました。従来の研究では「生命の設計図」とも呼ばれる DNA の解析に注力されてきましたが、本研究成果により、その設計図がどのように機能しているかを容易に調べることが可能になります。新しいイメージング手法では遺伝子操作を必要としないので、様々な生物に応用することができます。また、生きた組織内での薬剤応答時の RNA の動態変化を追跡することも可能であることが示され、本研究成果は製薬時のスクリーニングを早く正確に行うことにも役に立ちます。今後は、生きた個体の細胞内での RNA の集まりが環境応答によってどのように出現・消失するのか、何がそれを制御するのか、正常な組織と疾患にかかった組織でどのように異なっているのかを明らかにすることで、生きた組織・個体での遺伝子発現のメカニズムおよび疾患をもたらす RNA の動きの解明に繋げていきたいと考えています。

4. 用語解説

- ※1 RNA : リボ核酸 (ribonucleic acids) のことで、以前は DNA 遺伝物質からタンパク質を作り出すための鋳型として認識されていたが、近年、RNA 自身もつまぎざまな遺伝子情報発現の制御機能が明らかにされてきた。機能性 RNA が、生命科学研究や製薬の分野で注目を集めている。
- ※2 点灯型蛍光プローブ : DNA や RNA などの核酸を元にしたオリゴ鎖で、目的 RNA と相補的に結合することにより蛍光を発するプローブ。

※3 核内RNA顆粒：核内にあるRNA-タンパク質複合体が集まり、蛍光染色実験で顆粒状に観察されたことから核内RNA顆粒と呼ばれている。核内RNA顆粒は、細胞の代謝状態や細胞周期などに連動して制御されている。

5. 論文タイトル・著者

“ECHO-liveFISH: in vivo RNA Labeling Reveals Dynamic Regulation of Nuclear RNA Foci in Living Tissues”

(参考訳：生きた組織内での核内RNA顆粒の動的制御を明らかにしたECHO-liveFISHイメージング法)
Oomoto, Ikumi; Suzuki-Hirano, Asuka; Umeshima, Hiroki; HAN, YONG-WOON; Yanagisawa, Hiroyuki; Carlton, Peter; Harada, Yoshie; Kengaku, Mineko; Okamoto, Akimitsu; Shimogori, Tomomi; Wang, Dan

Nucleic Acids Research