

論文の内容の要旨

Rhythmic A-to-I RNA editing revealed by

comprehensive analysis of CLOCK-controlled genes

(ゲノムワイドな CLOCK の標的探索が明らかにした A-to-I RNA 編集リズム)

寺嶋 秀騎

24 時間周期で変化する地球上の環境に適応するため、非常に多くの生物種が概日時計と呼ばれる計時メカニズムを獲得してきた。概日時計が駆動するサーカディアンリズムにより、睡眠覚醒リズムやホルモンリズムなど、様々な生理現象が約 24 時間周期の規則的な変動を示す。哺乳類における概日時計の分子メカニズムは、bHLH-PAS 型転写因子の CLOCK と BMAL1 を中心とした転写・翻訳を介したフィードバックループによって構成されている。CLOCK と BMAL1 はヘテロ二量体を形成し、DNA 上の時計シスエレメント E-box に約 1 日周期で結合と解離を繰り返して多様な遺伝子の転写リズムを誘起する。

当研究室の先行研究により、マウス肝臓において CLOCK が結合する DNA 領域の網羅的同定と全転写産物の時刻プロファイル解析が行われた。本研究では、これらのデータを詳細に解析することにより、miRNA や選択的スプライシングなどの、時刻依存的な転写後制御の重要性が浮き彫りとなった (図 1)。

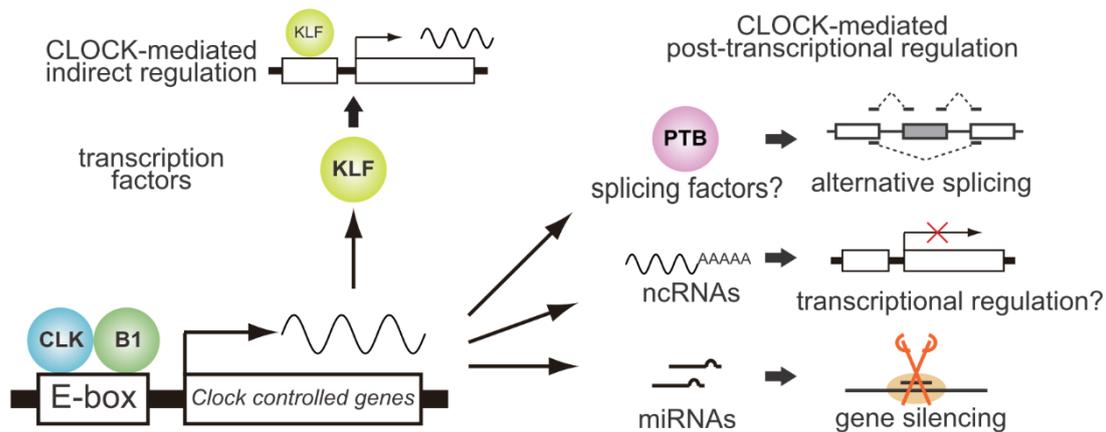


図1 CLOCKが生み出す転写後制御リズム

さらに本研究では、転写後制御の一種である A-to-I RNA 編集の責任酵素をコードする *Adar2* 遺伝子領域に CLOCK が結合し、リズム的な発現制御をもたらすことを見出した。BMAL1 を欠失したマウスにおいては、*Adar2* の発現リズムは低レベルで一定となっており、CLOCK/BMAL1 複合体による *Adar2* のリズム的な発現制御が示された。そこで、poly(A)+精製した RNA を次世代シーケンス解析に供し、転写産物における塩基配列が A-to-I RNA 編集を受けた結果、ゲノム上の塩基配列と異っている部位を抽出した。その結果、リズム的な A-to-I RNA 編集部位が多数同定され、その編集リズムの多くが *Adar2* を欠失したマウスにおいて消失することを見出した。興味深いことに、RNA-Seq 解析の結果から、リズム的に発現する遺伝子のうちおよそ 20% の転写産物リズムが、*Adar2* を欠失したマウスの肝臓において消失していることが判明し、*Adar2* が転写後制御を介して概日時計の出力系に大きく寄与することが示唆された。一方、*Adar2* 欠失マウスでは *CRY2* タンパク質の異常な蓄積とともに、マウス輪回し行動リズムや遺伝子発現リズムの短周期性が観察された。この *CRY2* タンパク質の蓄積の原因として、*Cry2* をターゲットとする miRNA の発現制御における *Adar2* の関与が示唆された。これらの結果から、*Adar2* は概日時計の発振系においても周期を決定する因子として重要な役割を担うことが明らかとなった。本研究によ

り、CLOCK が生み出す多様な転写リズムと転写後制御リズムをゲノムワイドに明らかにし、概日時計機構と A-to-I RNA 編集の機能連関を示した (図 2)。

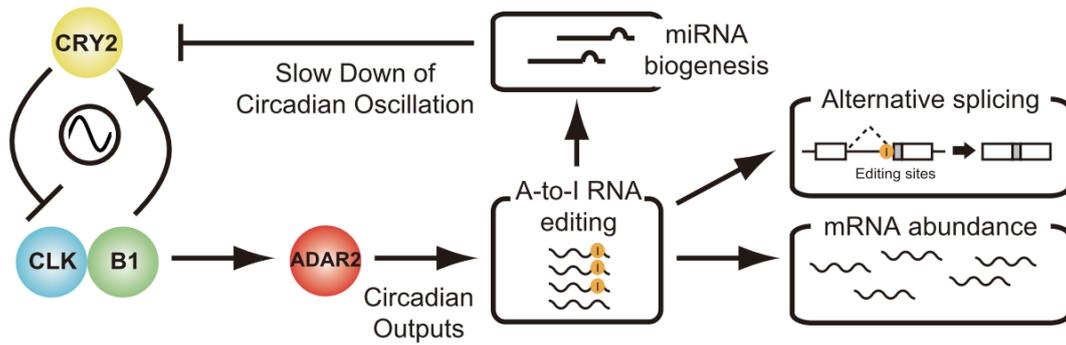


図 2 A-to-I RNA 編集と概日時計の機能的相互作用