

## 適正な RNA 核外輸送複合体形成の保証機構

谷口 一郎, 大野 睦人

真核細胞では、さまざまな種類の RNA が核から細胞質へと輸送される。その際、RNA はそれぞれの種類に対応した輸送因子群によって認識され、それらとともに核外輸送複合体を形成する。近年、輸送因子群は RNA を細胞質へ輸送するだけでなく、その RNA の品質管理に携わったり RNA の機能に影響を与えたりすることがわかってきた。したがって、RNA が適切な輸送複合体を形成する仕組みは正常な遺伝子発現にとって重要である。しかし RNAの中には、ふさわしくない輸送因子群と複合体を形成しかねない特徴を持つものが存在する。このような RNA の核外輸送において、輸送複合体形成はどのように制御されているのだろうか。本稿では、細胞やウイルスが備える、不適切な輸送複合体の形成を防止する機構について紹介する。

### 1. はじめに

DNA の塩基配列にコードされている遺伝情報は、転写によって RNA の塩基配列へと変換される。その後 RNA はプロセッシングされ、活性を持つ RNA 分子となったりタンパク質へ翻訳されたりする。真核細胞は転写と翻訳の場が核膜によって隔てられており、多くの RNA が核膜に穿たれた核膜孔を通して細胞質に現れる。RNA の細胞質への出現は RNA 単独で起こるのではなく、輸送因子群によって行われる。その際 messenger RNA (mRNA), transfer RNA (tRNA), ribosomal RNA (rRNA), Uridine-rich small nuclear RNA (U snRNA), microRNA 前駆体 (pre-miRNA) などの RNA は、その種類に対応した特異的な輸送因子群と複合体を形成して核外へ輸送される<sup>1-4)</sup> (図 1)。このことは、「異なる種類の RNA は異なる経路によって核外へ輸送される」と表現される。この一般的な規則は以下の先見的な研究から明らかになった。

Jarmolowski らは RNA の核外輸送を解析する手法として、アフリカツメガエルの卵母細胞への RNA 顕微注入法を用

いた。これは、試験管内転写反応によって放射能標識した RNA を卵母細胞の核内へ顕微注入し、経時的に核と細胞質に存在する RNA の分配を調べる手法である。さまざまな種類の RNA がどのような機構で核から細胞質へ輸送されるのかを調べる目的で、標識 RNA と一緒に非標識の RNA を大量に注入するという実験が行われた。その結果、非標識 tRNA を注入すると標識 tRNA の核外輸送が遅延することが明らかになった。この結果は、大量の tRNA によって tRNA 輸送因子群が飽和してしまい、tRNA 自身の輸送が競合的に阻害されたと解釈することができる。同様の現象は、mRNA, rRNA, および U snRNA の輸送の場合にも観察された。一方、たとえば標識 tRNA の核外輸送の場合に、非標識の mRNA, rRNA, U snRNA をそれぞれ大量に注入しても競合阻害はみられなかった。このことから、tRNA の核外輸送はそれ以外の種類の RNA とは異なる輸送因子群を利用していることが明らかになった（実際には部分的に共通の因子を利用している場合がある）。tRNA 以外の RNA についても同様の検証がなされ、「異なる種類の RNA は異なる経路によって輸送される」ことが一般化された<sup>4)</sup>。この実験を嚆矢として、卵母細胞への顕微注入法や生化学的解析、酵母を用いた遺伝学的手法などにより多様な研究が活発に行われ、各種 RNA の輸送因子群の同定と RNA 輸送複合体形成機構の理解が急速に進むこととなった。

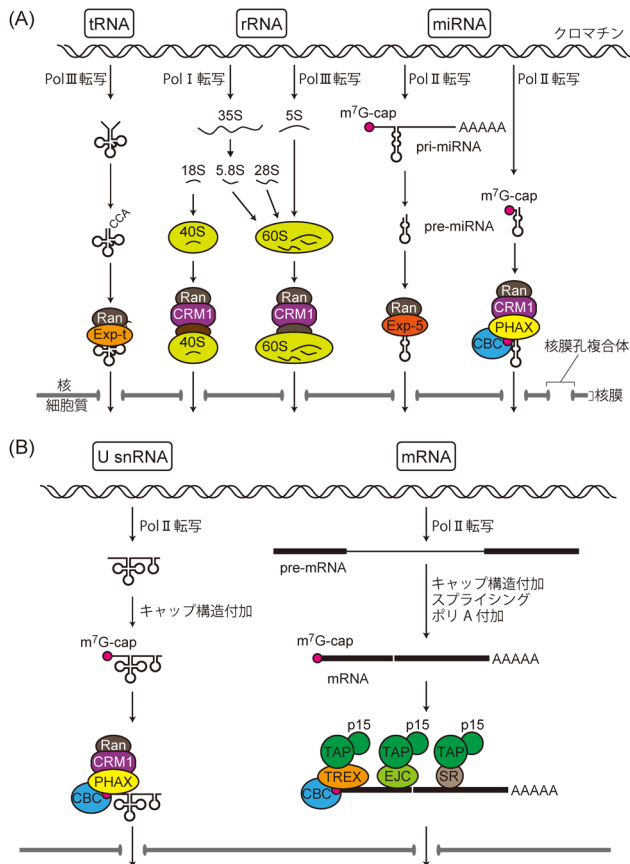
次節ではまず、一般的な mRNA の核外輸送複合体形成について概説する。同時に、U snRNA の核外輸送についてもふれる。mRNA は U snRNA と同じく RNA ポリメラーゼ II 型 (RNA polymerase II : Pol II) によって転写されるだ

京都大学ウイルス研究所 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53)

Regulation of proper complex formation for nuclear RNA export  
Ichiro Taniguchi and Mutsuhito Ohno (Institute for Virus Research, Kyoto University, 53 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2015.870068

© 2015 公益社団法人日本生化学会



**図1** 異なる種類のRNAは異なる経路によって核外輸送される (A) tRNA, rRNA, および pre-miRNA の核外輸送. tRNA は Pol III によって転写される. その後, RNA の5'および3'両末端の余分な配列が除去され, 3'末端へCCA配列が付加される. さらにtRNA内のいくつかの塩基は修飾される. このようにしてできた成熟tRNAの特徴的なL字形の立体構造を, 輸送因子であるエクスポートイン5が認識して, RanGTP 依存的に tRNA 輸送複合体が形成される. これとは別に, tRNA はエクスポートイン5に依存した機構によっても核外輸送される. rRNA のうち 28S, 18S, および 5.8S rRNA は, Pol II によって一つの 35S rRNA 前駆体として転写され, その後一連のプロセッシングを経て成熟化する. 一方, 5S rRNA は Pol III によって単独に転写される. 28S, 5.8S および 5S rRNA は 60S リボソームサブユニットを形成し, 18S rRNA は 40S リボソームサブユニットを形成する. 各サブユニットは別々に CRM1 経路で細胞質へ輸送される. 60S サブユニットの核外輸送には CRM1 だけではなくエクスポートイン5や Mex67 (TAP の酵母ホモログ) も関与している. pre-miRNA の核外輸送については本文参照のこと. (B) U snRNA と mRNA の核外輸送. 詳細は本文参照のこと. mRNA の核外輸送では TREX 複合体以外にも TAP-p15 のアダプター因子が存在する. EJC: スプライシング反応依存的にエクソン接合部近傍にリクルートされるタンパク質複合体 (exon junction complex). SR: 一群のスプライシング因子であり, スプライシング反応の過程で脱リン酸化される. 脱リン酸化された SR タンパク質は TAP-p15 と相互作用するようになる.

けでなく, U snRNA と類似した特徴を備えている. にも関わらず, 一般的な mRNA は U snRNA とは異なる経路で核外輸送される. mRNA の核外輸送において, どのような機構によって U snRNA 型の輸送経路の利用が抑制されているのだろうか. もし, その抑制機構が破綻して mRNA

に U snRNA 型の輸送複合体が形成された場合, mRNA にどのような問題が生じるのだろうか.

mRNA 核外輸送複合体の形成機構の詳細については片平氏の項を参照されたい.

## 2. mRNA の核外輸送複合体形成

### 1) U snRNA の核外輸送複合体

U snRNA は Pol II によって転写されるので, 新生 RNA 鎖の 5'末端に 7-メチルグアノシン型 ( $m^7G$ ) のキャップ構造が転写開始直後に付加される. このキャップ構造が U snRNA の核外輸送に重要なシグナルとなる. これにキャップ結合タンパク質複合体 (cap binding complex: CBC) が結合する. そして CBC と RNA の両方に結合する PHAX が U snRNA のキャップ構造近傍に結合する. 次いで PHAX の核外輸送シグナル (nuclear export signal: NES) を介して, 核外輸送因子の CRM1 が RanGTP 依存的に U snRNA 上にリクルートされる. こうした仕組みにより, U snRNA は CRM1 に依存した機構 (CRM1 経路) によって核外輸送される<sup>5)</sup> (図 1B). 核外へ輸送された U snRNA は細胞質で一連のプロセッシングを経て, 核内に輸送される. そして再輸送された U snRNA は mRNA 前駆体のスプライシング反応に関わる.

### 2) mRNA の核外輸送複合体形成

一般的な mRNA の核外輸送にもキャップ構造は重要な役割を果たす. mRNA も Pol II によって転写されるのでキャップ構造が付加され, これに CBC が結合する. ここまでは U snRNA の場合と同じである. しかし, これ以降の輸送因子群はまったく異なっている. mRNA の CBC には PHAX は結合せず, 一般的な mRNA の核外輸送は CRM1 経路ではない. その代わりに RNA 結合タンパク質の ALY/REF が, CBC と RNA に結合する<sup>6,7)</sup>. この際 ALY/REF は transcription/export (TREX) 複合体と呼ばれるタンパク質複合体の構成因子として mRNA 上にリクルートされる. この TREX 複合体が, 核外輸送因子の TAP/NXF1-p15 ヘテロ二量体 (以下, TAP-p15) を RNA 上にリクルートすることにより, mRNA 輸送複合体が RNA のキャップ構造近傍に形成される. このような仕組みによって, 一般的な mRNA は TAP-p15 に依存した機構 (TAP-p15 経路) で核外輸送される (図 1B).

以上のように U snRNA と mRNA の核外輸送では, RNA のキャップ構造と CBC という共通の因子が関与しているにも関わらず, 最終的な輸送複合体はまったく異なる. これは, U snRNA と mRNA の何らかの相違点が識別されていることを示している. それでは, 両 RNA にはどのような相違点があるのだろうか.

### 3) イントロン配列による mRNA と U snRNA の識別

mRNA と U snRNA の相違点の一つとして, イントロ

ン配列の有無があげられる。多くのmRNAは、イントロン配列を含んだRNA (mRNA前駆体) として転写され、mRNA前駆体は核内でスプライシングされる。一方、高等真核細胞のU snRNAにはイントロン配列がない。このことからイントロン配列の有無が、mRNAとU snRNAとを識別する特徴である可能性が考えられた。このことを検証するため、筆者らはU snRNAに人為的にイントロン配列を挿入したRNAを作製し、このRNAの卵母細胞への顕微注入実験を行った<sup>8)</sup>。このRNAは核内でスプライシングされ核外へ輸送されたが、興味深いことに、スプライシングを経たU snRNAにはPHAXは結合せず、代わりにALY/REFが結合していることがわかった。このRNAの核外輸送はU snRNAとしてではなく、mRNA型のTAP-p15経路によって行われていた (図2A)。以上の結果は、イントロン配列を持つということが、RNAがmRNAとして認識されるための一つの目印であることを示している<sup>8)</sup>。

特筆すべきことに、PHAXはスプライシングされたU snRNAに結合していないばかりか、スプライシングを受ける前のイントロン配列を保持したU snRNAにも結合していなかった。この結果は、スプライシング反応によってRNA上のPHAXが除かれたのではなく、スプライシング反応前にすでにPHAXのRNA上へのリクルートが阻害されていたことを意味する。イントロン配列を持つこと自体

に、RNAをU snRNAではないものとして認識させる効果があるようだ<sup>8)</sup>。イントロン配列を持つRNA上へのPHAXリクルートの阻害の仕組みについては後に考察する。

もう一つここで言及しておきたいことは、スプライシングされて輸送されたU snRNAの運命である。上述したが、通常U snRNAは核外へ輸送後、核内へ再輸送される。しかし、スプライシングされ細胞質へ輸送されたU snRNAは、U snRNAと同じ塩基配列を持つにも関わらず、核内へ再輸送されなくなった (図2A)。この結果は、核外輸送因子群は輸送を行うだけではなく、輸送後のRNAの局在にも影響を与えることを示している<sup>8)</sup>。これは、正常な遺伝子発現にはRNAが適切な輸送経路を選択することが重要であることを如実に示す例である。

#### 4) RNAの長さに応じたmRNAとU snRNAの識別

mRNAの中には、もともとイントロン配列を持たないmRNAも多く存在しており、そのようなRNAもTAP-p15経路によって核外へ輸送される。したがって、イントロン配列以外にもU snRNAとmRNAとを識別するための相違点があるはずである。その一つとして、次に筆者らはRNAの長さに注目した。U snRNAの長さは200塩基以下である一方、mRNAの平均長は約2000塩基であり、両者にはRNAの長さに大きな開きがあるからである。U snRNAとmRNAの識別にRNAの長さが果たす役割を検証するため、以下の顕微注入実験を行った。

イントロン配列を持たないmRNAを人為的に欠失して、段階的に短くしたさまざまな長さのmRNAを作製した。これらのRNAを核内に顕微注入すると、ある程度の長さを持つRNAにはALY/REFが結合してmRNA型のTAP-p15経路で輸送された。しかし短くなったmRNAにはALY/REFが結合せず、代わりにPHAXが結合してU snRNA型のCRM1経路で輸送されることがわかった。これとは対照的に、U snRNAに強い高次構造を形成しないRNA配列を挿入して長くすると、そのRNAにはPHAXが結合せず、ALY/REFが結合してTAP-p15経路で輸送された。以上の実験でCRM1経路とTAP-p15経路の切り替わりが起こるRNAの長さは、どちらの実験の場合も200から300塩基であった<sup>8,9)</sup> (図2B)。以上の結果から、細胞にはRNAの長さを測って、そのRNAの核外輸送経路を仕分ける因子が存在することが想定された。

筆者らは次に、RNAの長さを測る因子を生化学的手法によりHeLa細胞の核抽出液中に探索し、核内に大量に存在するRNA結合タンパク質であるhnRNP C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub>ヘテロ四量体であることを明らかにした<sup>10)</sup>。hnRNP Cヘテロ四量体は、230から240塩基のRNAに安定に結合するという報告<sup>11)</sup>があり、この長さはちょうど上述のCRM1経路とTAP-p15経路の切り替わりが起こる境界と符合する。また、hnRNP CはCBCと相互作用することもわかった。さらに、HeLa細胞においてhnRNP CをRNA干渉法でノックダウンすると、mRNAにPHAXがリクルートされてくるよ

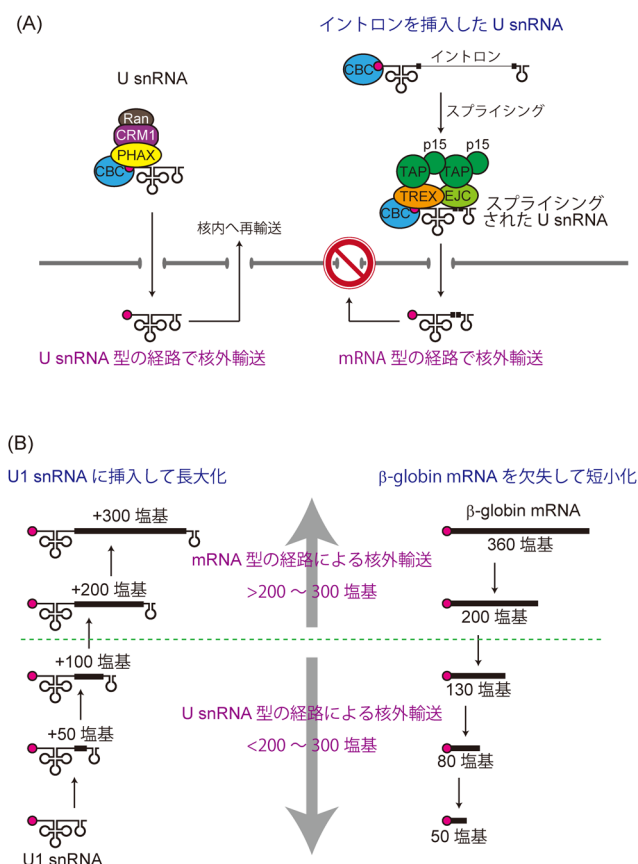


図2 U snRNAとmRNAの識別におけるイントロン配列 (A) とRNAの長さ (B) の効果  
本文参照のこと。



うになった。この結果は、mRNA上にCRM1経路が誘導されるのを防いでいる分子がhnRNP Cであることを示唆している。また、hnRNP Cノックダウンによって、mRNAの核外輸送が遅延した（遅延を引き起こす仕組みは興味深いのが現時点では明らかでない）。この遅延は、hnRNP CとともにPHAXを同時にノックダウンすることによって回復した。したがってmRNAにU snRNA型の輸送複合体が形成されることは、mRNAの役割を發揮するには不適切であることを示している<sup>10)</sup>。以上の結果から、hnRNP CはRNAの長さを測ることにより、mRNAとU snRNAとを仕分け、適切なmRNA輸送複合体形成を保證する役割を担っていることが明らかになった。hnRNP Cが両RNAを仕分ける仕組みとして、筆者らは以下のモデルを提唱した<sup>10)</sup>。

PolIIによる転写開始直後には、新生RNA鎖の5'末端にキャップ構造が付加され、これにCBCが結合する。この段階では、新生RNA鎖がU snRNAとmRNAのどちらのRNAとして輸送されるかは未定である。RNAの長さが200塩基以下の段階で転写が終結すると、hnRNP Cの四量体は安定にはRNAに結合できない。したがってPHAXがCBCとRNAの両方に結合でき、RNAのキャップ構造近傍にU snRNA核外輸送複合体が形成され、CRM1経路で輸送される。一方、PolIIによる転写が200から300塩基以上継続して行われると、hnRNP CがRNAに安定に結合するようになる。このときhnRNP CはCBCにも結合できるので、PHAXのCBC結合は競合的に阻害される。これによりmRNAにはU snRNA型のCRM1経路は誘導されない。さらに転写反応が進行していく過程で、ALY/REFを含んだTREX複合体がhnRNP Cと置き換わる。その結果、RNAのキャップ構造近傍にmRNA核外輸送複合体が形成され、TAP-p15経路で輸送される（図3）。キャップ構造近傍におけるhnRNP CからTREX複合体への置換の分子機構については明らかでないが、何らかのRNAヘリカーゼが関与しているのかもしれない。

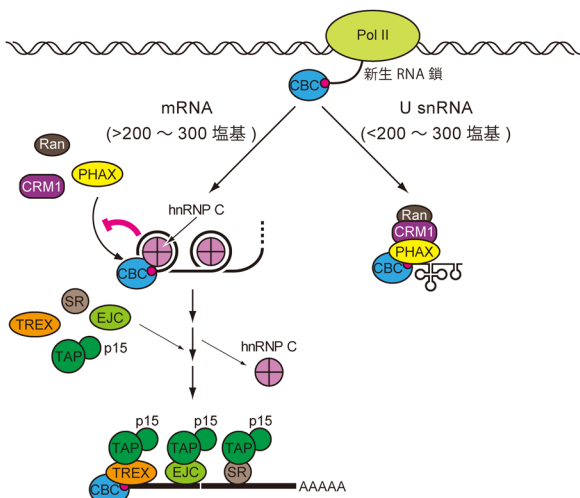


図3 hnRNP CはRNAの長さを測りmRNAとU snRNAとに仕分ける  
本文参照のこと。

前項で、人為的にイントロン配列を挿入することで、スプライシングされたU snRNAの輸送経路がmRNA型に切り替わった実験結果を紹介した。この切り替わりの要因として、まず第一にイントロン内のスプライシングのための塩基配列の効果が考えられる。そのような配列には、mRNAに特異的なRNA結合因子であるスプライシング因子群が集結してくるからである。ただし長さに応じたhnRNP Cによる識別を考慮すると、もう一つの可能性が考えられる。上記実験で挿入されたイントロン配列の長さは150塩基ほどであり、RNAの長さが切り替わりをある程度引き起こしているのかもしれない。スプライシングされたU snRNAの輸送経路の切り替わりが、イントロン内の配列によるものかRNAの長さによるものかを区別するためには、短いイントロン配列を用いる必要がある。しかし、RNAの長さの効果を完全に排除できるまで短くしたイントロン配列（50塩基）を挿入したU snRNAはスプライシングされなかったもので、今のところ明確な答えは得られていない。

RNAの長さによってPolII転写産物が識別される機構は進化的にどれほど保存されているのだろうか。予備的な結果であるが、ショウジョウバエの培養細胞でも、RNAの長さに応じてU snRNAとmRNAの輸送複合体形成が切り替わるようである。したがってショウジョウバエにも核外輸送においてRNAの長さを測る因子が働いていることが推察される。ただしhnRNP Cは後生生物に保存されているが、ショウジョウバエや線虫には明確なホモログがない。これらの生物において、どのような因子がRNA識別を行っているのか、興味深い。

## 5) ポリA配列によるmRNAとU snRNAの識別

一般的なmRNAのもう一つの特徴として、5'末端のキャップ構造とイントロン配列のほかに、3'末端のポリA尾部がある。ポリA尾部もU snRNAとmRNAの識別に用いられているのだろうか。筆者らはこの点についても検証した。卵母細胞への注入実験の結果、ポリA配列にはRNAをmRNA型のTAP-p15経路で輸送させる活性があることがわかった<sup>12)</sup>。輸送経路の切り替わりは70塩基ほどのポリA配列でも起こり、この長さはhnRNP Cが結合するには短い。また、ポリA尾部にはポリA結合タンパク質が安定に結合する。したがって、この場合の識別にhnRNP Cが直接関与しているとは考えにくい。近年、mRNAの3'末端の切断・ポリA尾部付加反応に、TREX複合体の構成因子であるALY/REFやThoc5が関与しているという報告がある<sup>13-15)</sup>。ポリA配列によるmRNA型輸送への切り替えには、TREX複合体が関与しているのかもしれない。

## 6) CRM1経路で輸送されるmRNA

これまで説明してきたように一般的なmRNAはTAP-p15経路で輸送されるが、CRM1経路で輸送されるmRNAの知見が蓄積してきた。その代表的なものがサイクリンD1遺伝子のmRNAである<sup>16)</sup>。このmRNAには核外輸送のため

の配列 (eIF4E-sensitive element: eIF4E-SE) が存在し、この配列に翻訳開始因子の eIF4E が結合する。eIF4E を介して CRM1 がリクルートされて、サイクリン D1 mRNA は核外輸送されることがわかった。興味深いことに、この mRNA への TAP-p15 の結合は阻害されていた<sup>16)</sup>。一般的には eIF4E は細胞質に輸送されてきた mRNA のキャップ構造に CBC と置き換わって結合する因子である。このことを考慮すると、eIF4E-SE に結合した eIF4E がキャップ構造にも安定に結合することで、CBC 自体のキャップ結合を競合的に阻害して、ALY/REF を介した TAP-p15 依存の輸送複合体形成を阻害しているのかもしれない。サイクリン D1 mRNA のような一群の mRNA の核外輸送が TAP-p15 経路ではなく CRM1 経路で行われる生理学的意義は不明である。

### 7) pre-miRNA の核外輸送との関連

mRNA と同じく、PolII によって転写されキャップ構造やポリ A 尾部が付加される RNA として、遺伝子発現を転写後に調節する microRNA (miRNA) がある。miRNA はまず一次転写産物 (primary miRNA: pri-miRNA) として転写される。pri-miRNA は核外輸送されず、核内でその 5' 側と 3' 側が Drosha と DGCR8 から構成されるマイクロプロセッサー複合体によって切断されて、miRNA 前駆体 (pre-miRNA) となる。したがって、pre-miRNA はキャップ構造やポリ A 尾部を持たない。pre-miRNA の 3' 突出末端を持つ二本鎖 RNA という特徴的な立体構造はエクスポーティン 5 (Exp-5) により認識され、RanGTP 依存的に pre-miRNA 輸送複合体が形成される (図 1A)。pre-miRNA にはキャップ構造はないので、CBC は pre-miRNA の核外輸送に直接的には関与しない。ただし、CBC は Ars2 と相互作用して転写中の RNA にマイクロプロセッサー複合体をリクルートすると考えられている<sup>17)</sup>。マイクロプロセッサー複合体による切断の前に pri-miRNA が U snRNA や mRNA の経路で輸送されてしまわないのは、Ars2 の CBC 結合の効果なのかもしれない。

最近、pre-miRNA の中に Exp-5 依存の経路ではなく、U snRNA 型の CRM1 経路で核外輸送されるものが発見された<sup>18)</sup>。このような pre-miRNA は PolII によって転写された後、マイクロプロセッサー複合体による切断を受けない。したがってキャップ構造が付加されたままであり、RNA は CBC と PHAX を介した CRM1 経路によって核外輸送される (図 1A)。このキャップ構造を持った pre-miRNA は 200 塩基以下と短いので hnRNP C が結合できず、核外輸送において U snRNA として認識されるのだろう。

### 3. ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) の RNA の核外輸送複合体形成の制御

一般的な mRNA には mRNA 型の TAP-p15 経路だけではなく、U snRNA 型の CRM1 経路も誘導される可能性があるが、hnRNP C のおかげで CRM1 経路の利用は抑制される

ことがわかった。ここでは一般的な mRNA のように、複数の核外輸送経路が誘導される可能性のある RNA として、HIV-1 の RNA を取り上げ、この RNA の輸送経路が適切な方の一つに規定される機構について紹介する。

HIV-1 の感染後期に発現する Gag, Pol, Env などのウイルスタンパク質は、スプライシングが不完全なウイルス RNA (長さが 4000 塩基と 9000 塩基の RNA, 4 kb と 9 kb) から翻訳される。そのためには HIV-1 はイントロン配列を持ったままの RNA を核外に輸送する必要がある。しかし細胞の規則として mRNA 前駆体の核外輸送は抑制されている。この細胞による監視をくぐり抜けるため、HIV-1 は巧妙な戦略をとっている。それはまず、4 kb RNA と 9 kb RNA のイントロン配列内に存在する Rev response element (RRE) と呼ばれる配列に、ウイルスの Rev タンパク質が結合する。次いで Rev が、その NES を介して CRM1 をリクルートすることによって、4 kb RNA と 9 kb RNA を核外輸送するというものである<sup>1)</sup> (図 4A)。

Rev による CRM1 リクルートの活性により、4 kb RNA と 9 kb RNA の核外輸送における障壁は除かれているようにみえるが、問題はそれほど単純ではない。これらの RNA の 5' 末端には細胞の mRNA と同じくキャップ構造が付加されているので、TREX 複合体を介して TAP-p15 経路も誘

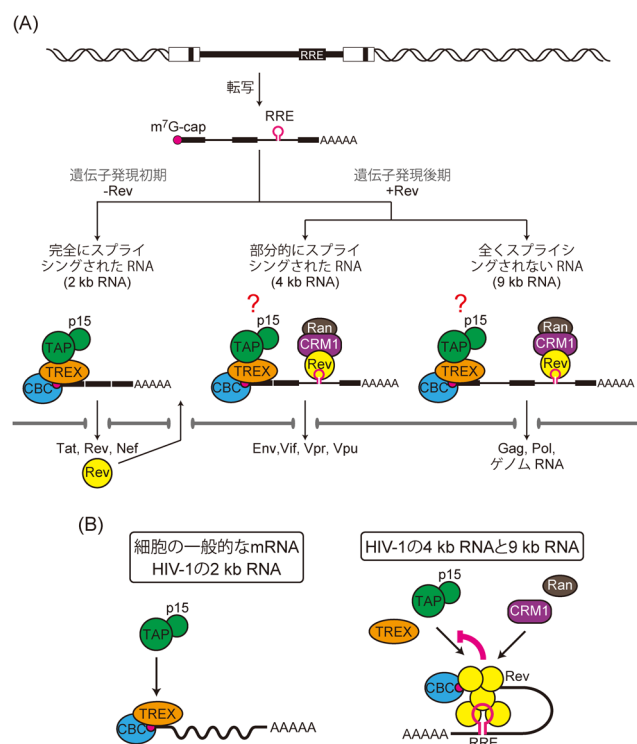


図 4 HIV-1 の RNA の核外輸送

(A) HIV-1 の遺伝子発現は RNA 核外輸送によって制御される。本文参照のこと。(B) HIV-1 の Rev タンパク質によるウイルス RNA の核外輸送複合体のリモデリング。Rev は Rev タンパク質どうして結合できる。RRE に結合している Rev と CBC に結合している Rev が相互作用することで Rev の CBC 結合が安定化する。これにより TREX 複合体を介した TAP-p15 経路の誘導を阻害する。詳細は本文参照のこと。

導される可能性がある。輸送経路が遺伝子発現に及ぼす影響を考慮すると、CRM1とTAP-p15が同一のRNAに対して同時に用いられるという状況は、HIV-1の遺伝子発現にとって問題であると考えられた(図4A)。

この問題をHIV-1がどのように解決しているのかを明らかにするため、筆者らは4 kb RNAと9 kb RNAを模倣するモデルRNAを用いて解析した。その結果、RRE配列を持つRNAの核外輸送において、RevはCRM1経路を誘導する既知の活性だけではなく、ALY/REFのRNA上へのリクルートを積極的に阻害してTAP-p15経路の利用を遮断する新しい活性を持つことを見いだした。さらに、RevとCBCとの相互作用も観察され、RevはRRE配列を持つRNAのキャップ構造近傍にも結合することがわかった。以上の結果を考えると、RevはCBCに結合することで、ALY/REFを介したTAP-p15のRNA上へのリクルートを競合的に阻害しているのだろう<sup>19)</sup>(図4B)。

興味深いことに、TAP-p15の過剰発現によって強制的に4 kb RNAと9 kb RNAにTAP-p15経路を誘導すると、これらのRNA量が減少し、ウイルス粒子の産生が低下した。この結果は、TAP-p15経路はウイルスの遺伝子発現に悪影響を及ぼすということ、そしてこの悪影響を回避するために、RevによるTAP-p15リクルートの阻害は重要であるということを示している<sup>19)</sup>。これもまた、正常な遺伝子発現にはRNAが適切な輸送経路を選択することが重要であることを示す例である。HIV-1のRNAと上述のサイクリンD1遺伝子などの一群のmRNAはともにCRM1経路で輸送されるmRNAであるが、これらに何らかの共通の特徴があるのかもしれない。このような特徴の解明は、RNA核外輸送研究に新たな洞察を与えてくれるだろう。

#### 4. おわりに

本稿で取り上げたRNAの核外輸送の研究により、U snRNA, mRNA, およびHIV-1のRNAの遺伝子発現においては、CBCに結合する因子がRNA核外輸送やその際の仕分け機構に中心的な役割を担っていることがみえてきた。また、転写伸長因子やスプライシング因子などもCBCに結合して、それらの反応を促進することが知られている<sup>20)</sup>。これらの知見を考え合わせると、キャップ構造とCBCは遺伝子発現のさまざまな過程を統合するハブとしての役割を担っているといえよう。CBCに結合する因子が、そのRNAがどの段階の状態であるかを明示し、そして次にどの過程に進むかを指令する。しかし、これらの因子のCBC結合がどのように制御されているのかは不明であり、今後の課題である。

本稿では取り上げることができなかったが、PolIIIで転写されるRNAの中に、mRNAのように長大であり、スプライシングされ、ポリA尾部を持つ非翻訳RNA (long non-

coding RNA : lncRNA) がある。これらの三つの特徴にはmRNAとしての核外輸送を促進する役割があることは上述したが、多くのlncRNAは核内に保持されている。なぜそれらのlncRNAは核外輸送から免れているのだろうか。mRNAとlncRNAの相違点を識別して細胞内局在を規定する機構があるはずである。識別機構に用いられる特徴はどのようなものだろうか。それはさまざまなlncRNA内で共通のものなのだろうか、それともそれぞれのlncRNAに固有のものなのだろうか。この問題の解明は、単にRNAの局在機構を明らかにするだけでなく、さまざまなlncRNAの働きを理解する一助となるはずである。RNAの核外輸送・核内保持の統一的なモデルはおおよそ完成したかと思われたが、lncRNAの発見により、いまだ道半ばといわざるをえない。

#### 文 献

- 1) Cullen, B.R. (2003) *Trends Biochem. Sci.*, **28**, 419–424.
- 2) Kohler, A. & Hurt, E. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 761–773.
- 3) Rodriguez, M.S., Dargemont, C., & Stutz, F. (2004) *Biol. Cell*, **96**, 639–655.
- 4) Jarmolowski, A., Boelens, W.C., Izaurralde, E., & Mattaj, I.W. (1994) *J. Cell Biol.*, **124**, 627–635.
- 5) Ohno, M., Segref, A., Bachi, A., Wilm, M., & Mattaj, I.W. (2000) *Cell*, **101**, 187–198.
- 6) Cheng, H., Dufu, K., Lee, C.S., Hsu, J.L., Dias, A., & Reed, R. (2006) *Cell*, **127**, 1389–1400.
- 7) Nojima, T., Hirose, T., Kimura, H., & Hagiwara, M. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 15645–15651.
- 8) Ohno, M., Segref, A., Kuersten, S., & Mattaj, I.W. (2002) *Mol. Cell*, **9**, 659–671.
- 9) Masuyama, K., Taniguchi, I., Kataoka, N., & Ohno, M. (2004) *Genes Dev.*, **18**, 2074–2085.
- 10) McCloskey, A., Taniguchi, I., Shinmyozu, K., & Ohno, M. (2012) *Science*, **335**, 1643–1646.
- 11) Huang, M., Rech, J.E., Northington, S.J., Flicker, P.F., Mayeda, A., Krainer, A.R., & LeSturgeon, W.M. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 518–533.
- 12) Fuke, H. & Ohno, M. (2008) *Nucleic Acids Res.*, **36**, 1037–1049.
- 13) Katahira, J., Okuzaki, D., Inoue, H., Yoneda, Y., Maehara, K., & Ohkawa, Y. (2013) *Nucleic Acids Res.*, **41**, 7060–7072.
- 14) Tran, D.D., Saran, S., Williamson, A.J., Pierce, A., Dittrich-Breiholz, O., Wiehlmann, L., Koch, A., Whetton, A.D., & Tamura, T. (2014) *Nucleic Acids Res.* 10.1093/nar/gku911
- 15) Johnson, S.A., Cubberley, G., & Bentley, D.L. (2009) *Mol. Cell*, **33**, 215–226.
- 16) Culjkovic, B., Topisirovic, I., Skrabanek, L., Ruiz-Gutierrez, M., & Borden, K.L. (2005) *J. Cell Biol.*, **169**, 245–256.
- 17) Nielsen, A.F., Gloggnitzer, J., & Martinez, J. (2009) *Cell*, **138**, 224–226.
- 18) Xie, M., Li, M., Vilborg, A., Lee, N., Shu, M.D., Yartseva, V., Sestan, N., & Steitz, J.A. (2013) *Cell*, **155**, 1568–1580.
- 19) Taniguchi, I., Mabuchi, N., & Ohno, M. (2014) *Nucleic Acids Res.*, **42**, 6645–6658.
- 20) Gonatopoulos-Pournatzis, T. & Cowling, V.H. (2014) *Biochem. J.*, **457**, 231–242.



## 著者寸描

●谷口 一郎 (たにぐち いちろう)

京都大学ウイルス研究所助教, 博士 (理学).

■略歴 2002年大阪大学工学部卒業, 04年京都大学大学院理学研究科修士課程修了, 07年同大学院理学研究科博士後期課程単位取得退学, 08年理学博士取得 (京都大学), 07年より現職.

■研究テーマと抱負 RNAスプライシングと核外輸送の係に興味を持って研究を行っている. モデル生物(?)としてウイルスを用いるようになり, 今更ではあるがウイルス研究の面白さに開眼している.

■ウェブサイト <http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab/ohnolab.html>