

研究助成 2018 –がん領域– 研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	東京理科大学 研究推進機構 生命医科学研究所
氏 名	櫻井 雅之
研究テーマ	ゲノム DNA アデノシン脱アミノ化修飾による DNA 変異とがん化機構解明、抗がんへの応用

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

細胞の遺伝子発現調節機構には、遺伝子情報を記載する核酸塩基の化学構造を修飾する機構が存在する。中でも我々はアデノシン(A)の脱アミノ化反応によるイノシン(Ino, I)と呼ばれる修飾機構(A-to-I RNA 編集, 図 1a)の研究を進めている。イノシンはグアノシン(G)と構造が似ているため、塩基対形成の相手が A:T (チミン) から I:C (シチジン) へと変化する。これは実質、配列が A から G へと編集されることと同様の効果を持つ。この A-to-I RNA 編集を担う酵素である ADAR (Adenosine Deaminase Acting on dsRNA: 二本鎖 RNA 特異的アデノシン脱アミノ化酵素) は二本鎖 RNA 特異的と考えられていた(図 1b)。しかし我々は今回、ADAR が RNA:DNA ハイブリッド鎖をも基質とし、RNA 及び DNA を A-to-I 編集する活性を持つことを発見した(図 1b)。

本研究では RNA:DNA ハイブリッド鎖を含む R-loop 構造における、ADAR によるゲノム安定性制御機構の解明を目的とした。培養細胞を用いた ADAR の発現抑制条件時の解析により、ADAR 発現抑制時に RNA:DNA 鎖量の増加が検出されるとともに、DNA 損傷の増大と修復系の活性化、細胞分裂期における細胞周期の停止が認められ、アポトーシスの誘導による細胞死が観察された。また、細胞からの ADAR 抗体を用いた免疫沈降産物の解析により ADAR が RNA:DNA 鎖分解酵素と複合体を形成していることを見出した。特に、培養がん細胞において RNA:DNA ハイブリッド鎖がテロメア領域でも検出されたことから、この領域についての解析を進めた結果、テロメア配列の派生体間で形成される RNA:DNA ハイブリッド鎖に対して ADAR が作用し、A-C ミスマッチを解消して Ino-C 塩基対へと変換するように A-to-I 編集が起こり、これが RNA:DNA 鎖の塩基対形成を安定化することを見出した(図 1c)。さらに、この作用により RNA:DNA 鎖の RNA 鎖選択的分解酵素である RNaseH2 の反応効率を促進し、結果として細胞内のテロメア領域に形成された RNA:DNA 鎖を解消し、ゲノムの安定性に寄与し、細胞増殖を維持する効果を持つことを明らかにした(図 1c)。本成果は ADAR の新たな基質として見出された RNA:DNA 鎖に対する活性が細胞のゲノム構造の安定化に寄与する例として、今後 ADAR と RNA:DNA 鎖制御機構によるゲノム制御機構とがん細胞の関わりを明らかにし、今後さらなる機構の解明へとつながると考えている。

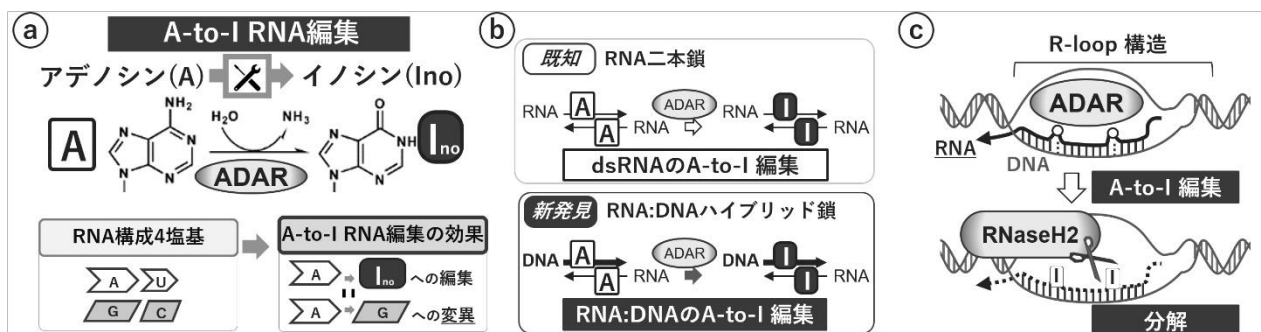


図1: (a) アデノシン(A)の脱アミノ化によるイノシン(Ino)へのA-to-I RNA 塩基編集機構。(b) 近年発見したADARによる RNA:DNAハイブリッド鎖を基質としたDNA A-to-I 編集機構。(c) R-loop構造を安定化しているRNA:DNAハイブリッド鎖内のA-Cミスマッチに対するA-to-I 編集によるRNaseH2依存的RNA切断の増強機構。

研究助成 2018 – がん領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属	東京理科大学 研究推進機構 生命医科学研究所
氏	名	櫻井 雅之

1. 論文発表実績

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- ・ 国内外雑誌を問わない。
- ・ 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のabstractは含めない。
- ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Yusuke Shiromoto*, <u>Masayuki Sakurai*</u> (*Equal contribution as a 1st author), Moeko Minakuchi*, Kentaro Ariyosi, and Kazuko Nisikura. "ADAR1 RNA editing enzyme regulates R-loop formation and genome stability at telomeres" Nat. Commun. (2021, in revision) ※査読有り
2	Yuxi Yang, Shunpei Okada, and <u>Masayuki Sakurai*</u> (Corresponding Author). "Adenosine-to-inosine RNA editing in neurological development and disease" RNA Biology . Jan. 6:1-15 [DOI:10.1080/15476286.2020.1867797, PMID: 33393416.] (2021). ※査読有り
3	<u>Masayuki Sakurai.*</u> (Corresponding Author), Shunpei Okada, Hiroki Ueda, and Yuxi Yang. "Discovering A-to-I RNA Editing Through Chemical Methodology "ICE-seq" Methods Mol. Biol. 2181:113-148 [DOI:10.1007/978-1-0716-0787-9_8, PMID: 32729078] (2021). ※査読有り
4	Yusuke Shiromoto *, <u>Masayuki Sakurai</u> , Helen Qu, Andrew V Kossenkov, and Kazuko Nishikura. "Processing of Alu small RNAs by DICER/ADAR1 complexes and their RNAi targets" RNA . [DOI:10.1261/rna.076745.120., PMID: 32817447] (2020). ※査読有り

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年12月	Nobuyoshi Akimitsu, Michiaki Hamada, <u>Masayuki Sakurai</u> The 43rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan Workshop 1PW-03 "RNA reincarnation" Japan, Online, Dec. 2020.
2	2020年10月	Yusuke Shiromoto, Masayuki Sakurai, Moeko Mizuguchi, Kentaro Ariyosi, Kazuko Nisikura. "ADAR1 RNA editing enzyme regulates R-loop formation and genome stability at telomeres in cancer cells" VIRTUAL KEYSTONE SYMPOSIA RNA Editing and Modifications: From Biology to Therapy Sept. 30-Oct. 2, 2020 10:00AM EDT 2:00PM UTC*
3	2019年12月	Yusuke Shiromoto, Masayuki Sakurai, Moeko Mizuguchi, Kentaro Ariyosi, Kazuko Nisikura. The 42rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (第42回 日本分子生物学会年会)「RNA 編集酵素 ADAR1 による R-loop 形成抑制と Genome Stability 維持機構」Fukuoka, Japan, Dec. 2019.
4	2019年10月	<u>Masayuki Sakurai.</u> "Technology to identify 5th nucleic acids base INOSINE in transcriptome" BIO JAPAN 2019 Yokohama, Japan. Oct. 2019.
5	2019年3月	Kazuko Nisikura, <u>Masayuki Sakurai</u> , Yusuke Shiromoto, Kentaro Ariyosi, Andrew V Kossenkov, Jayamanna Wickramasinghe, Louise C Showe. "Regulation of Genome Stability by ADAR RNA Editing Enzymes" 2019 Gordon Research Conference, RNA editing. Giovanni Pascoli Lucca (Barga), Italy., Mar. 2019.
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年5-6月	The 26th RNA meeting. Online May 25th-June5th 2021.
2	2021年7月	The 22rd Annual Meeting of the RNA Society of Japan (第22回日本 RNA 学会年会) Tsuruoka, Japan. Jul. 2021
3	2021年8月	Gordon Research Conference (GRC) DNA&RNA editing (国際会議) Ventura, CA, US. Aug. 2021
4	2021年12月	The 44rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (第44回 日本分子生物学会年会) Yokohama, Japan. Dec. 2021.