

所属	薬学部医療薬学科生化学研究室	氏名	藤原 俊伸
----	----------------	----	-------

課題名	真核生物における翻訳制御機構の解析		
研究分担者	氏名	所属	職位
	船上 仁範	薬学部医療薬学科生化学研究室	講師
	深尾 亜喜良	薬学部医療薬学科生化学研究室	助教

## 研究概要

近年、キャップ構造依存的な翻訳機構を標的とした新規抗がん剤開発が注目されているが、一般的なスクリーニング法においては「キャップ構造依存的な翻訳機構」について厳密に評価可能な生化学実験系は少なく、効率的ではない。そこで本研究では、当研究室のもつキャップ構造およびポリ(A)配列依存的翻訳活性を厳密に制御可能なヒト培養細胞種の抽出液を用いた *in vitro* 翻訳系および化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを行う。

## 研究成果

様々なヒト由来培養細胞種の抽出液を用いた *in vitro* 翻訳系を構築し、cap-poly(A)依存的翻訳に対して影響を与える化合物のスクリーニングを実施した。これまでにリン酸化および脱リン酸化酵素に対するスクリーニングにより抗がん作用が認められた化合物ライブラリーを用いたところ、数種において翻訳を活性化する化合物があることが明らかとなった。

一方、ヒト肝癌由来培養細胞抽出液を用いた *in vitro* 翻訳系の構築にも成功し、A 型肝炎ウイルス (HAV) がもつキャップ非依存的な翻訳機構 (IRES 依存的翻訳機構) について解析を行った。そして、HAV IRES 依存的翻訳活性が肝細胞特異的に高いこと、HAV IRES 依存的翻訳活性を上昇させる因子が肝細胞特異的に存在することを明らかにした。さらに、タンパク質発現を転写後レベルで調節する RNA 結合タンパク質 (ZFP36L1) が、サイトカインの 1 種である IL-6 mRNA の翻訳量を脱アデニル化による mRNA の不安定化機構とは独立した機構で抑制していることを証明した。

また、当研究室の実験システムを用いて「eIF4A/4E 依存性 mRNA 翻訳機構は、PDGFR および MVP が PDAC の浸潤性/転移性表現型をブロックするための優れた標的であり、癌の場合に PD-1/PD-L1 ベースの治療法の改善にも役立つ可能性があること」および「ヒトにおいてコドン嗜好性による mRNA の安定性制御が存在すること」を示した。

## 研究発表

## ①原著論文

- i) Otsuka H, Fukao A, Funakami Y, Duncan KE, Fujiwara T.  
Emerging Evidence of Translational Control by AU-Rich Element-Binding Proteins  
*Frontiers in Genetics*, 10:332, May 2019
- ii) Shigeru Hashimoto, Shotaro Furukawa, Ari Hashimoto, Akio Tsutaho, Akira Fukao, Yurika Sakamura, Gyanu Parajuli, Yasuhito Onodera, Yutaro Otsuka, Haruka Handa, Tsukasa Oikawa, Soichiro Hata, Yoshihiro Nishikawa, Yusuke Mizukami, Yuzo Kodama, Masaaki Murakami, Toshinobu Fujiwara, Satoshi Hirano, Hisataka Sabe  
ARF6 and AMAP1 are major targets of KRAS and TP53 mutations to promote invasion, PD-L1 dynamics and immune evasion of pancreatic cancer  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 116(35), Aug 2019
- iii) Fabian Hia, Sheng Fan Yang, Yuichi Shichino, Masanori Yoshinaga, Yasuhiro Murakawa, Alexis Vandenbon, Akira Fukao, Toshinobu Fujiwara, Markus Landthaler, Tohru Natsume,

Shungo Adachi, Shintaro Iwasaki, Osamu Takeuchi

Codon Bias Confers Stability to mRNAs in Humans

*EMBO Reports*, 20(11), Nov 2019

iv) Hiroshi Otsuka, Akira Fukao, Takumi Tomohiro, Shungo Adachi, Toru Suzuki, Akinori Takahashi, Yoshinori Funakami, Toru Natsume, Tadashi Yamamoto, Kent E. Duncan, Toshinobu Fujiwara

ARE-binding protein ZFP36L1 interacts with CNOT1 to directly repress translation via a deadenylation-independent mechanism

*Biochimie*, 174:49-56, Apr 2020

## ②学会発表

i) Reconsidering the function of eIF4A2 in miRNA-mediated gene silencing

Hyerim Choe, Akira Fukao, Yuichi Shichino, Shintaro Iwasaki, Toshinobu Fujiwara

第21回 日本RNA学会年会

ii) miRISCが誘導する翻訳開始抑制機構に関する因子の探索

坂村由梨佳, 友廣拓生, 大塚衆志, 深尾亜喜良, 船上仁範, 足達俊吾, 夏目徹, 鈴木享, 山本雅, 藤原俊伸

第21回 日本RNA学会年会

iii) シグナル伝達因子 Akt1 と神経特異的 RNA 結合タンパク質 HuD による翻訳制御機構

仲栄真夕夏, 深尾亜喜良, 船上仁範, 藤原俊伸

第21回 日本RNA学会年会

iv) ARE 結合タンパク質 hnRNPD による遺伝子発現制御機構の解析

石田一希, 西阪皓理, 大塚衆志, 深尾亜喜良, 船上仁範, 藤原俊伸

第21回 日本RNA学会年会

v) 脊髄性筋萎縮症 (SMA) の病因タンパク質 SMN の細胞質における機能解析

松田莉沙, 永野可菜, 深尾亜喜良, 船上仁範, 藤原俊伸

第21回 日本RNA学会年会