

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	二本鎖 DNA により駆動される新規の遺伝子ノックダウン現象の動作原理の解明				
研究テーマ (欧文) AZ	A novel gene knockdown phenomenon that is triggered by double strand DNA.				
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) オヌマ	名) タケシ	研究期間 B	2016～2018 年
	漢字 CB	小沼	健	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	Takeshi	Onuma	研究機関名	大阪大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	大阪大学 大学院理学研究科・助教				
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)	<p>本研究では、代表者らが多細胞動物で初めて見出した「二本鎖 DNA を注入すると、配列特異的に遺伝子機能が抑制される現象 (DNAi)」のしくみを明らかにすることを試みた。この DNAi の特徴のひとつに、配列特異的な標的 mRNA 分解が見られる点がある。このため RNA 干渉 (RNAi) のしくみを参考にすれば、DNAi のしくみにアプローチできるという仮説を立てて研究を進めた。その結果、DNAi のしくみとして、以下の 2 点を明らかにした。</p> <p>(1) RNAi では、二本鎖 RNA から 20-30 塩基長の一本鎖の小分子 RNA がガイド鎖として合成され、このガイド鎖と相補的な配列をもつ RNA が分解される。DNAi でも同様に、注入した二本鎖 DNA に対応した配列をもつ小分子 RNA が合成されることを見出した。またその 3' 末端の塩基は C に偏っていることも分かった。現在、このガイド鎖の全長配列を明らかにするため、RNA-seq 解析を行っている。</p> <p>(2) 核酸分解酵素である Argonaute (Ago) について調べた。RNAi における標的 mRNA 分解は、(1) のガイド鎖と Ago の複合体がなう。オタマボヤには Ago のホモログが多数存在するが、このうち恒常的に発現している Ago は 7 種類存在する。これらについて Flag タグ標識して培養細胞に発現させ、免疫沈降により精製することで、小分子 RNA との結合の有無を定量する実験系を構築した。その結果、オタマボヤの Ago のうちいくつかは、ガイド鎖と複合体を形成することを見出した。</p> <p>このように本助成を通じて、謎に包まれていた DNAi のしくみについての理解が大きく進み、論文公表が見える段階まで辿りつくことができた。今後、その仕上げとして (1) については二本鎖 DNA から一本鎖 RNA がつくられるしくみを、(2) については、内在性の小分子 RNA と Ago との複合体形成を検討していく。</p>				
キーワード FA	オタマボヤ	DNAi	遺伝子ノックダウン	脊索動物	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	二本鎖 DNA による新規の遺伝子ノックダウン現象 (DNAi): ガイド鎖と核酸分解酵素 Argonaute からそのしくみに迫る.							
	著者名 ^{GA}	小沼健, 塚田かすみ, 西田宏記	雑誌名 ^{GC}	日本応用酵素協会誌.					
	ページ ^{GF}	11~18	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	52
雑誌	論文標題 ^{GB}	オタマボヤの発生学を開拓する: 「単純な体の脊索動物」という個性を活かす試み.							
	著者名 ^{GA}	小沼健, 松尾正樹, 西田宏記 (2018)	雑誌名 ^{GC}	実験医学.					
	ページ ^{GF}	1021~1025	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	36 (6)
雑誌	論文標題 ^{GB}	脊索動物ワカレオタマボヤを用いた DNAi による母性因子の機能的スクリーニング.							
	著者名 ^{GA}	松尾正樹 (他 1 名) 小沼健, 西田宏記	雑誌名 ^{GC}	比較内分泌学					
	ページ ^{GF}	5~7	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	157
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Mechanisms of double strand DNA (dsDNA)-mediated gene knockdown phenomenon (DNAi) in the larvacean, *Oikopleura dioica*, were investigated with special reference to comparison with RNA interference (RNAi). Our analyses unraveled two novel characteristics of DNAi: (1) Synthesis of small RNA from dsDNA; (2) Argonaute (Ago) homologues bind with small RNA.