

領域略称名：非コードRNA
領域番号：3104

平成23年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「非コードRNA作用マシナリー」

(領域設定期間)
平成21年度～平成25年度

平成23年6月

領域代表者 東京大学・分子細胞生物学研究所・准教授・泊幸秀

目次

研究領域の目的および概要	1
研究の進展状況	2
研究を推進する上での問題点と今後の対応策	3
主な研究成果	4
研究成果の公表の状況	6
研究組織と各研究項目の連携状況	26
研究費の使用状況	29
今後の研究領域の推進方策	30
総括班評価者による評価の状況	31

研究領域の目的および概要

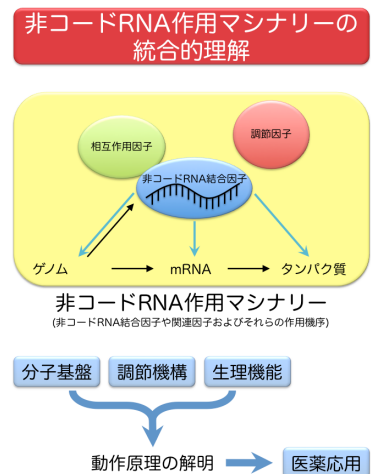
研究領域名：非コード RNA 作用マシナリー 研究期間：平成 21 年度～25 年度

領域代表者：東京大学分子細胞生物学研究所・准教授・泊幸秀

補助金交付額：平成 21 年度 133,600 千円、22 年度 171,700 千円、23 年度 172,280 千円、24 年度 176,200 千円、25 年度 178,700 千円

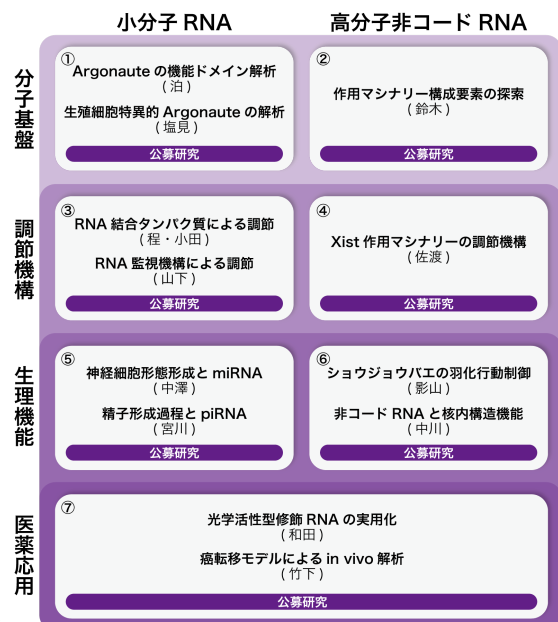
【領域の目的】

近年の研究により、ヒトを含む高等真核生物には膨大な数の非コード RNA が存在しており、発生や老化、さらには行動や記憶など、生物の高次機能に非コード RNA が深く関与していることが指摘されている。これらの非コード RNA は、ゲノムのエピジェネティックな修飾や、転写・翻訳、RNA の安定性など、遺伝子発現の様々な段階で非コード RNA が重要な役割を果たしていることが明らかにされているが(右図)、このような状況にもかかわらず、「非コード RNA がどのような分子メカニズムで働くのか」という非コード RNA の動作原理に対する我々の理解は、驚くほど進んでいない。本領域では、非コード RNA とその相互作用因子からなる複合体（エフェクター複合体）や関連因子により構成される、非コード RNA とその作用機序を総称して「非コード RNA 作用マシナリー」と名付け、その分子基盤および調節機構、さらには高次生命現象で果たす生理的役割の詳細な理解を通じて非コード RNA の動作原理を明らかにすることを目的とする。



【領域の概要】

本領域では、「学術領域研究」という我が国独自の研究支援制度を最大限に活用し、非コード RNA の基盤研究から医薬応用に向けての理想的な「学術連鎖」を着実に推進することを戦略目標とする。したがって、あえて研究項目を設けず、小分子 RNA あるいは高分子非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤、その調節機構、高次生命現象における非コード RNA の生理機能の解明、そして医薬応用という一連の計画研究を、同時並行的かつ有機連携的に進めることとする。研究実施にあたっては、小分子 RNA・高分子非コード RNA の枠にとらわれず、手法やアイデアの共有を積極的に推進することで、非コード RNA マシナリーの動作原理の本質的理解や医薬応用への貢献を目指す。また、計画研究で網羅できない小分子 RNA あるいは高分子非コード RNA について、個々の非コード RNA 作用マシナリーに関する公募研究を実施する。



研究の進展状況

本研究では研究項目を設けていないため、研究計画にある階層ごとに進展状況を述べる。

①非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤

非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤を理解するため、生化学的・構造生物学的解析を進めており、極めて順調に研究は進展している。小分子 RNA 作用マシナリーについては、その核心を成す Argonaute ファミリータンパク質（AGO サブファミリータンパク質および PIWI サブファミリータンパク質）について、AGO サブファミリータンパク質と小分子 RNA の複合体（RISC）形成過程や、PIWI サブファミリータンパク質に結合する小分子 RNA の生合成経路について解析を進めており、大きな成果を上げている。また、高分子非コード RNA 作用マシナリーの構造と機能の関係を理解するため、質量分析法を用いた RNA 分子構造の直接解析を進めており、各種の条件検討を終えて現在 Xist と MALAT1 について部分的ながら構造を決定することに成功している。

②非コード RNA 作用マシナリーの調節機構

小分子 RNA 作用マシナリーにおける調節因子の一つである RNA 結合タンパク質に着目し、標的 mRNA に結合する RNA 結合タンパク質と siRNA/miRNA との競合作用の解析が進められており、概ね順調に研究は進展している。上記競合作用を評価できるレポーターシステムを用い、アポトーシスにより誘導される D8 タンパク質が miRNA と競合することにより、標的遺伝子の発現を調節していることを明らかにしている。また、高分子非コード RNA 作用マシナリーのモデル系として Xist 複合体に着目し、調節因子である不活性 X 染色体局在タンパク質の役割について、Xist の X 染色体への局在化や X 染色体のヘテロマチン化における機能解析が進められている。

③高次生命現象における非コード RNA の生理機能の解明

高次生命現象における非コード小分子 RNA 作用マシナリーの重要性を理解するため、各種モデル生物を用いた小分子 RNA の機能解析を進めている。小分子 RNA については、ニューロンのスパイン形成、精子形成、骨形成、性決定などを対象とし、組織あるいは性特異的な小分子 RNA の機能解析が進んでおり、一部は既に論文として発表されている。高分子非コード RNA については、マウスおよびショウジョウバエ中枢神経系をモデル系とした解析が進められており、非コード RNA の下流で機能する多数の標的遺伝子が同定されている。概ね計画通りの進展が見られ、研究計画後半において詳細な分子メカニズムについての成果が期待される。

④非コード RNA 作用マシナリーの医薬応用

非コード RNA 作用マシナリーの医薬応用に向けて、効果的な修飾核酸の合成法の確立とともに、生体内での修飾核酸の効果を検討しており、極めて順調に研究が進展している。光学活性ホスホロチオエート RNA などの核酸修飾について実用的合成法の開発が進められており、成果の多くは特許として出願済みである。また、ヒト由来がん細胞やがんモデル動物を用い、修飾核酸が小分子 RNA マシナリーおよび治療効果に与える影響を検討しており、成果の一部は論文として発表されている。

研究を推進する上での問題点と今後の対応策

総括班評価者による評価の状況にもあるように、現在までのところ、全体としては領域計画の達成に向けて概ね順調に進行していると考えられる。しかしながら、来年度以降は以下の点を考慮した上で、より一層の研究の推進を目指したい。

研究計画前半では、これまで不明な点の多かった非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤を明らかにしつつ、非コード RNA が関与する高次生命現象の基本的な理解を目指した。これらについては、いくつかの課題は残るものの、おおむね達成しつつあると考えており、後半ではさらなる飛躍を目指す。一方で、非コード RNA の機能が多岐にわたり、個々の研究の積み重ねが必ずしも研究の連携に結びついていないという側面もあった。小分子 RNA 作用マシナリーの素過程の生化学的解析や、高分子非コード RNA に結合するタンパク質の同定などについて顕著な成果が得られたことから、これらの結果を踏まえて、他の研究との連携という形でさらなる発展を促すように働きかけたい。研究集会や国際シンポジウムあるいは雑誌の特集の共同企画といった形で、領域内での研究者間交流の機会が増えたことから、領域内の共同研究は格段に増加しており、研究計画後半において成果を期待するとともに、研究者間の交流を継続して支援したい。

また、研究計画とはやや異なるものの、領域の推進にとって非常に意義ある発見もなされつつある。一例を挙げれば、高分子非コード RNA の生理機能解析（計画研究 6）の研究分担者である中川により見出された、hnRNP U による Xist RNA の局在制御機構（*Dev. Cell*, 2010）が挙げられる。当該成果は本領域の発足を受けて開始された研究が予想外に進展した結果として得られたものであるが、非コード RNA 作用マシナリーの調節機構（計画研究 4）にある Xist 複合体の解析にヒントを得たものである。このような研究者の自由な発想に基づく横断的な研究をさらに推進することも、本領域の後半期の役割の一つであろう。

なお、計画研究のうち、程らによる研究課題は、研究分担者（東大・西村）が 22 年度限りで現職を退職したことから、23 年度より当該研究を継続して行う小田と、RNP 複合体解析に実績のある山下の 2 人の研究分担者が加わった。両名の参加により、当初の計画以上に非コード RNA マシナリーの調節機構に関する分子レベルの研究の推進が期待される。

公募班についても、研究課題として採択されたにもかかわらず、やむを得ない事情により 23 年度の実施を辞退したものが 2 件ある。22 年度より公募班に参加した竹田は、日本学術振興会の最先端・次世代研究開発支援プログラムへの参加に伴い、23 年度の本領域への参加を辞退した。また、同じく 22 年度より公募班に参加した西増は、科研費応募資格の変更に伴い、所属部局内の内規に従って 23 年度の本領域への参加を辞退せざるを得なくなった。両名とも領域会議の参加等の形で本領域の構成員との交流を維持する予定である。

主な研究成果

①非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤

体細胞における小分子 RNA 作用マシナリーのエフェクター複合体である RISC について、AGO タンパク質による小分子二本鎖 RNA の取り込みが、Hsc70/Hsp90 の関与する ATP 依存的反応であること、その後の二本鎖の解離は ATP 非依存的であることを示し、従来の見解を一新させた

(泊 : *Mol. Cell*, 2010; *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; 塩見 : *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010; 図 1)。また、小分子 RNA 二本鎖が AGO タンパク質に効率良く取り込まれ、さらに効率良く一本鎖化するために、どのような構造的および配列的特徴が必要かを明らかにした (泊 : *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2009; *EMBO Rep.*, 印刷中)。上記の研究成果により人工 miRNA の設計も可能となったため、国際特許出願も行われた (泊 : WO/2011/001965)。

さらには、生殖細胞特異的な細胞質内構造体の一つ Yb bodies の構成因子、Yb 及び Armitage が PIWI タンパク質と会合しており、piRNA 生合成に重要な役割を果たしていることを明らかにした (塩見 : *Genes Dev.*, 2010)。また、上記の研究過程で、ショウジョウバエの転写因子である Traffic Jam タンパク質が *piwi* 遺伝子を転写レベルで制御しており、一方で *traffic jam* mRNA の 3' UTR から生産される piRNA が卵巣形成に重要な役割を果たしていることを見出した (塩見 : *Nature*, 2010)。

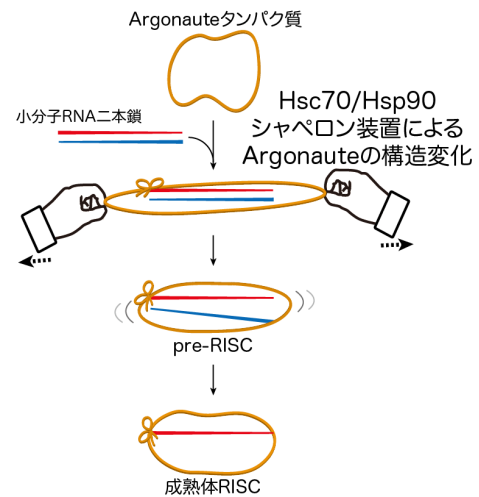


図 1 RISC 形成におけるシャペロン装置の役割

②非コード RNA 作用マシナリーの調節機構

小分子 RNA によるサイレンシング時に見られるオフターゲット効果が小分子 RNA のシード領域の熱力学的安定性に強く依存することを明らかにし、オフターゲット効果を回避しつつターゲット遺伝子特異的な RNA 干渉が可能な siRNA および shRNA の配列設計法を構築した (程 : *BMC Bioinformatics*, 2009)。

また、DNA ストレスによって誘導される RNA 結合タンパク質 D8 が、アポトーシス誘導因子である Bim の mRNA の 3' UTR と相互作用し、miRNA から Bim mRNA を保護することによって Bim の発現誘導およびアポトーシスの促進を行っていることを明らかにした (小田 : 未発表; 図 2)。高分子非コード RNA については、Xist RNA の機能欠損変異 (*Xist^{ΔVS}*) を持つマウス胚における X 染色体不活性化の異常について詳細な解析を行い、この変異マウスでは Xist RNA の X 染色体への局在は正常であるものの、X 染色体不活性化の維持にのみ特異的に異常が見られ、X 染色体不活性化が起こらないことを明らかにした (佐渡 : *Development*, 2011)。

また、転写阻害剤を使用しない新しい RNA 分解測定手法を開発し (秋光 : 特願

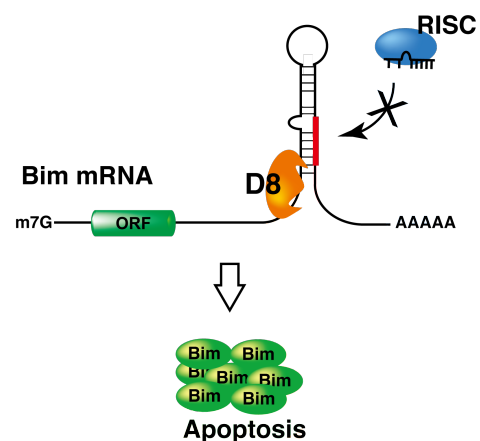


図 2 ストレス応答性 RNA 結合タンパク質 D8 によるアポトーシスの制御

2010-152640)、この手法を用いて NEAT1/MENe/b, ANRIL, H19, HOTAIR などの高分子非コード RNA の分解速度が早いこと、さらにはこれらの高分子非コード RNA の分解が 5'-3' 方向分解複合体 exosome により制御されていることを明らかにした (秋光: 未発表)。

③高次生命現象における非コード RNA の生理機能の解明

生殖細胞の分化・維持に重要な役割を果たしている piRNA について、マウスの生殖細胞特異的な RNA ヘリカーゼである MVH が、piRNA の産生の場合として考えられている生殖顆粒の構造の維持と piRNA の 2 次産生機構に関与することを明らかにした (宮川: *Genes Dev.*, 2010)。また、胎生期の野生型マウスの雌雄間で miRNA 発現量に顕著な性差が存在し、この性差が Drosha 複合体と相互作用する Y 染色体由来の因子 DBY に由来することを明らかにした (松本: 未発表)。高分子非コード

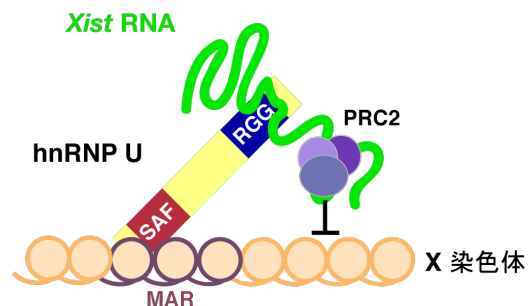


図3 hnRNP U による Xist RNA の局在化

RNA については、遺伝子量補償に支配的な役割を果たす Xist RNA の局在が、核マトリクス結合タンパク質である hnRNP U により制御されており、hnRNP U が Xist と直接結合していることを示した (中川: *Dev. Cell*, 2010; 図3)。また、非コード RNA の研究過程で、非コード RNA であると思われたショウジョウバエの転写産物が、実際には小さなペプチドをコードし、転写因子である SVB タンパク質の活性調節を介して、上皮細胞の形態形成に必要な遺伝子群の発現制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした (影山: *Science*, 2010)。

④非コード RNA 作用マシナリーの医薬応用

非コード RNA の核酸医薬への応用を目指し、有効な核酸修飾の一つとして、核酸のリン酸ジエステル結合に存在するリン原子のホスホロチオエート化に着目し、その立体配置が厳密に制御された光学活性 RNA を化学合成する際に、シアノエトキシメチル基が有効な 2'-水酸基の保護基であること、電子求引基を有するア

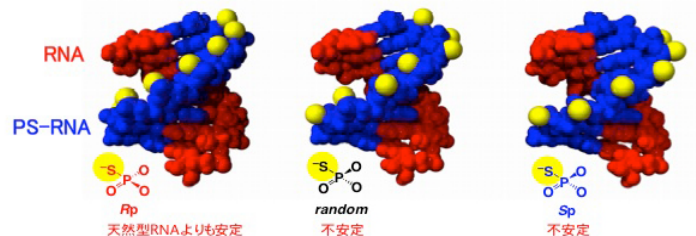


図4 光学活性ホスホロチオエート (PS) による RNA 安定性の制御

ルコキシエチル基が新規 2'-水酸基の修飾官能基として有効であることを見出し、光学活性ホスホロチオエート RNA オリゴマーの効率的固相合成法として特許出願した (和田: PCT/JP2011/055018; US61/418,384)。また、光学活性ホスホロチオエートの導入により、RNA 二重鎖の熱的安定性が顕著に増大することを見出し、特許出願した (和田: PCT/JP2011/055018; 図4)。この現象を、泊らによる高効率な RISC 形成ルールと組み合わせることにより、医薬応用につなげる道筋を付けた。

研究成果の公表の状況（主な論文一覧、ホームページ、公開発表等）

本学術領域における研究成果は、学術雑誌における出版を基本に、新聞発表、特許等で公表されている。以下に主要な研究成果と発表された論文・総説・特許および新聞発表を記す。本新学術領域研究では、平成 21 年度に発足した 7 の計画研究と平成 22 年度発足の 13 の公募研究により、374 件の学会等発表（うち海外発表 109 件）が行なわれ、105 編の原著論文と 74 編の総説が発表されている。また、研究成果の一部は 14 件の特許（出願を含む）として実用化されている。特に顕著な研究成果についてはプレスリリース等により公開されており、新聞等にも掲載されている。本新学術領域研究のホームページ（<http://ncrna.jp/>：アクセス数 49,846）では、構成員および研究内容をわかりやすく紹介するほか、研究に関する話題をブログ形式で提供するなどの試験的な試みも行っている（<http://ncrnablog.blogspot.com/>：アクセス数 27,286）。研究成果を専門分野以外の研究者にも広く周知するために、22 年度は日本分子生物学会においてシンポジウムを企画した。23 年度においてはシンポジウムとともにワークショップを設け、非コード RNA 作用マシナリー研究の啓蒙に努めるとともに、闊達な議論を集約して研究の推進に生かしたい。また、22 年度には神戸において、理化学研究所発生・再生科学総合研究センターおよび新学術領域研究「RNA 制御学」と共催で国際シンポジウム（The 19th CDB Meeting: RNA Sciences in Developmental Biology）を、23 年度には東京において本領域主催で国際研究シンポジウム（Tokyo RNA Club The 5th Meeting）を開催し、本領域の研究成果を国内外に広く発信した。今後、平成 24 年度は再び RNA 制御学領域と共催で、25 年度には本領域主催で国際シンポジウムを日本で開催する予定である。さらに、雑誌「実験医学」および「細胞工学」（共に 2011 年 7 月刊行予定）にて、本領域計画班員が中心となって非コード RNA に関する特集を企画し、本新学術領域研究の主要研究成果を広く周知する予定である。また、一般向けの講演会等を通し、国民との科学・技術対話も積極的に行っており、例えば領域代表者が行った中高生向けの講演会においては、「小さな RNA の大きな世界」という先端的な内容であったにもかかわらず、参加者約 900 名のうち、約 4 割が「大変よく理解できた」約 4 割が「だいたい理解できた」との好評を得た。また、「科学の世界に興味を持った」「研究に将来携わってみたいと思った」等の声が多く聞かれた。

<主な論文等一覧>

A01 計画研究

計画研究 1

<研究代表者> 泊 幸秀（東京大学・分子生物学研究所）

<研究分担者> 塩見美喜子（慶応大学・医学部）

<研究課題名> 小分子 RNA 作用マシナリーの中核因子 Argonaute の解析

<主な研究成果概要>

Argonaute ファミリータンパク質はすべての小分子 RNA 作用マシナリーの核心を成す因子であり、恒常的に発現する AGO サブファミリーと生殖細胞特異的な PIWI サブファミリーに分類される。泊は、small interfering RNA (siRNA) および microRNA が取り込まれる AGO サブファミリータンパク質の分子基盤を明らかにするため、AGO タンパク質と小分子 RNA が RISC と呼ばれる機能複合体を形成する過程に着目した様々な生化学的な解析を行い、以下の知見を得た。

① ショウジョウバエおよびヒトにおいて、小分子 RNA 二本鎖が AGO サブファミリータンパ

ク質に取り込まれる際には ATP が必要であるものの、その後 AGO タンパク質内において一本鎖化するには ATP は必要でないことを示し、RISC 形成の既存概念を覆すモデルを提唱した（原著論文 6、7）。

- ② ショウジョウバエおよびヒトにおいて、小分子 RNA 二本鎖が AGO サブファミリータンパク質に取り込まれるためには、Hsc70/Hsp90 シャペロンマシナリーによる AGO タンパク質のダイナミックな構造変化が必要であることを明らかにし、なぜ RISC 形成過程の前期に ATP が必要であるかという議論に終止符を打った（原著論文 5、10）。
- ③ ショウジョウバエおよびヒトにおいて、小分子 RNA 二本鎖が AGO タンパク質に効率良く取り込まれ、さらに効率良く一本鎖化するために、どのような構造的および配列的特徴が必要かを明らかにした（原著論文 1、7）。これにより、これまで一見ランダムに見えていた天然の miRNA の構造的特徴を包括的に説明できる様になったと同時に、人工的な miRNA の論理的デザインも可能になったため、その設計法について国内特許・国際 PCT 特許出願を行った（特許 1）。
- ④ ショウジョウバエ卵巣体細胞由来細胞株において、Yb bodies の構成因子である Yb 及び Armitage が piRNA 生合成に必須な因子である事を明らかにした。Armitage が PIWI に結合する事によって PIWI を Yb bodies へとリクルートし、Yb bodies で piRNA 前駆体と PIWI/Armitage 複合体が会合した後、piRNA の成熟化が起こるというモデルを提唱した（原著論文 9）。

<原著論文>

1. *Kawamata T, Yoda M, *Tomari Y; Multilayer checkpoints for microRNA authenticity during RISC assembly. **EMBO Rep.** (印刷中)
2. Kawaoka S, Arai Y, Kadota K, Suzuki Y, Hara K, Sugano S, Shimizu K, Tomari Y, Shimada T, *Katsuma S; Zygotic amplification of secondary piRNAs during silkworm embryogenesis. **RNA** (印刷中)
3. Kawamata T, *Tomari Y; Native Gel Analysis for RISC Assembly. **Methods Mol Biol.**, 725, 91-105 (2011).
4. Kuboe S, Yoda M, Ogata A, Kitade Y, *Tomari Y, *Ueno Y; Diazirine-containing RNA photocrosslinking probes for the study of siRNA-protein interactions. **Chem Commun.**, 46, 7367-7369 (2010).
5. Iwasaki S, Kobayashi M, Yoda M, Sakaguchi Y, Katsuma S, Suzuki T, *Tomari Y; Hsc70/Hsp90 chaperone machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. **Mol Cell.**, 39, 292-299 (2010)
6. Yoda M, Kawamata T, Paroo Z, Ye X, Iwasaki S, Liu Q, *Tomari Y; ATP-dependent human RISC assembly pathways. **Nat Struct Mol Biol.**, 17, 17-23 (2010)
7. Kawamata T, Seitz H, *Tomari Y; Structural determinants of miRNAs for RISC loading and slicer-independent unwinding. **Nat Struct Mol Biol.**, 16, 953-960 (2009)
8. Miyoshi K, Okada TN, Siomi H, *Siomi MC; Biological analyses of endogenous Argonaute complexes immunopurified with anti-Argonaute monoclonal antibodies. **Methods Mol. Biol.** 725, 29-43 (2011)
9. Saito K, Ishizu H, Komai M, Kotani H, Kawamura Y, Nishida KM, Siomi H, *Siomi MC; Roles for the Yb body components Armitage and Yb in primary piRNA biogenesis in *Drosophila*. **Genes Dev.**, 24, 2493-2498 (2010)
10. Miyoshi T, Takeuchi A, Siomi H, *Siomi MC; A direct role for Hsp90 in pre-RISC formation in *Drosophila*. **Nat Struct Mol Biol.**, 17, 1024-1026 (2010)
11. Miyoshi K, Miyoshi T, Hartig J, Siomi H, *Siomi MC; Molecular mechanisms that funnel RNA precursors into endogenous small-interfering RNA and microRNA biogenesis pathways in *Drosophila*. **RNA**, 16: 506-515 (2010)
12. Nagao A, Mitsuyama T, Huang H, Chen D, *Siomi MC, Siomi H; Biogenesis pathways of piRNAs loaded onto AGO3 in the *Drosophila* testis. **RNA**, 16, 2503-2515 (2010)
13. Nishida KM, Okada TN, Kawamura T, Mituyama T, Kawamura Y, Inagaki S, Huang H, Chen D, Kodama T,

- Siomi H, *Siomi MC; Functional involvement of Tudor and dPRMT5 in the piRNA processing pathway in *Drosophila* germlines. **EMBO J.**, 28, 3820-3831 (2009)
14. Saito K, Inagaki S, Mituyama T, Kawamura Y, Ono Y, Sakota E, Kotani H, Asai K, Siomi H, *Siomi MC; A regulatory circuit for *piwi* by the large Maf gene *traffic jam* in *Drosophila*. **Nature**, 461, 1296-1301 (2009)
15. Miyoshi K, Okada TN, Siomi H, *Siomi MC; Characterization of miRNA-RISC loading complex and miRNA-RISC formed in *Drosophila* miRNA pathway. **RNA**, 15, 1282-1291. (2009)

<総説>

1. Kwak PB, Iwasaki S, *Tomari Y; The microRNA pathway and cancer. **Cancer Sci.**, 101, 2309-2315 (2010)
2. Kawamata T, *Tomari Y; Making RISC. **Trends Biochem Sci.**, 35, 368-376 (2010),
3. Siomi MC, Sato K, Pezic C, Aravin AA; PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defense. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, 12, 246-258 (2011)
4. Saito K, Siomi MC; Small RNA-mediated quiescence of transposable elements in animals. **Dev. Cell**, 19, 687-697 (2010)
5. Siomi H and Siomi MC; Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals. **Mol. Cell**, 38, 323-332 (2010)
6. Siomi MC, Mannen T and Siomi H. How does the Royal Family of Tudor rule the PIWI-interacting RNA pathway? **Genes Dev.**, 24, 636-646 (2010)
7. Siomi MC, Miyoshi T, and Siomi H. piRNA-mediated silencing in *Drosophila* germlines. **Semin. Cell Dev. Biol.**, 21, 754-759 (2010)
8. Siomi H, Siomi MC; RISC hitches onto endosome trafficking. **Nat. Cell Biol.**, 11, 1049-1051 (2009)
9. Siomi MC, Kuramochi-Miyagawa S; RNA silencing in germlines - exquisite collaboration of Argonaute proteins with small RNAs for germline survival. **Curr. Opin. Cell Biol.**, 3, 426-434 (2009)
10. Kim VN, Han J, Siomi MC; Biogenesis of small RNAs in animals. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, 10, 126-139 (2009)
11. Siomi H, Siomi MC; On the road to reading the RNA-interference code. **Nature**, 457, 396-404 (2009)

(他 16 編)

<特許>

1. small RNA 二本鎖およびヘアピン型 RNA の設計方法 (特願 2009-153798, 特開 2011-4708)
2. Method for designing small RNA duplex and hairpin RNA (WO/2011/001965, PCT/JP2010/061036)

<国民との科学・技術対話>

1. 中高生対象の講演会「小さな RNA の大きな世界」2010 年 12 月 10 日

<新聞発表等>

日刊工業新聞 (21 面) 2009 年 8 月 20 日, 科学新聞 2009 年 8 月 28 日, 日刊工業新聞 (18 面) 2009 年 12 月 7 日, 日刊工業新聞 (20 面) 2010 年 6 月 4 日, 日経産業新聞 (11 面) 2010 年 6 月 8 日

計画研究 2

<研究代表者> 鈴木健夫 (東京大学大学院・工学系研究科)

<研究課題名> 高分子非コード RNA 作用マシナリー構成要素の探索と解析

<主な研究成果概要>

非コード RNA 作用マシナリーの構造と機能の関係を理解するため、質量分析法を用いた RNA 分子の直接解析を中心に行い、以下の知見を得た。

- ① マウス Xist RNA の 5'末端構造が cap1 構造を持つことを示唆する結果を得た。また、

MALAT1 の正常な 3'プロセッシング過程で生成する mascRNA 分子中に 1-メチルアデノシン修飾が形成されていることを見出した。

- ② アクチン結合タンパク ABP140 における 3-メチルシチジンメチル化活性を新たに見出し、ABP140 の変異体解析から機能に必要な残基を特定した（原著論文 1）。
- ③ piRNA のプロファイリングから性特異的に発現している piRNA 群の存在を見出し、piRNA の 2'-O-メチル化修飾構造を明らかにした（原著論文 2）。
- ④ tRNA の機能発現に必要な新規修飾アグマチジンの化学構造決定・修飾遺伝子の特定・合成経路の解明を行い、翻訳反応における機能を明らかにした（原著論文 3）。

<原著論文>

1. Noma A, Yi S, Katoh T, Takai Y, Suzuki T and *Suzuki T; Actin-binding protein ABP140 is a methyltransferase for 3-methylcytidine at position 32 of tRNAs in *Saccharomyces cerevisiae*. **RNA**. 17, 1111-1119 (2011)
2. Zhou X, Zuo Z, Zhou F, Zhao W, Sakaguchi Y, Suzuki T, Suzuki T, Cheng H, *Zhou R; Profiling Sex-specific piRNAs in Zebrafish. **Genetics**. 186, 1175-1185 (2010)
3. Ikeuchi Y, Kimura S, Numata T, Nakamura D, Yokogawa T, Ogata T, Wada T, Suzuki T, *Suzuki T; Agmatine-conjugated cytidine in tRNA anticodon essential for AUA decoding in archaea. **Nat. Chem. Biol.** 6, 277-282 (2010)

<総説>

1. Suzuki T, Nagao A, Suzuki T; Human mitochondrial diseases caused by lack of taurine-modification in mitochondrial tRNAs. **WIREs RNA**, 2, 376-386 (2011)
2. 鈴木勉、鈴木健夫; ミトコンドリア脳筋症とtRNAのタウリン修飾欠損 **細胞工学**, 29, 137-143 (2010)

計画研究 3

- <研究代表者> 程久美子（東京大学・大学院理学系研究科）
- <研究分担者> 西村教子（東京大学・分子細胞生物学研究所）（22 年度まで）
- <研究分担者> 小田健昭（東京大学・分子細胞生物学研究所）（23 年度から）
- <研究分担者> 山下暁朗（横浜市立大学・医学部）（23 年度から）
- <研究課題名> 小分子 RNA 作用マシナリーの調節機構

<主な研究成果概要>

小分子 RNA による遺伝子発現制御は、小分子 RNA と標的配列との相補性や、標的部および近傍の配列を識別する RNA 結合タンパク質などにより、巧妙に調節されていると考えられる。小分子 RNA 作用マシナリーにおけるこれらの要因を検証し、以下の知見を得た。

- ⑤ 小分子 RNA による遺伝子サイレンシングが、ターゲット部位に結合する RNA 結合タンパク質との競合によって制御されている可能性について実験を行い、候補となるいくつかの RNA 結合タンパク質との競合作用についてレポーターを用いた解析を行った。
- ⑥ DNA ストレスによって誘導される RNA 結合タンパク質 D8 がアポトーシスの誘導に非常に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、D8 はアポトーシス誘導因子である Bim の mRNA-3'UTR と相互作用し、miRNA から保護することによって Bim の発現を促進していることを明らかにした。
- ⑦ siRNA を用いた RNA 干渉におけるオフターゲット効果が、シード領域の熱力学的安定性に強く依存することを明らかにした。また、オフターゲット効果を回避し、ターゲット遺

伝子特異的な RNA 干渉が可能な siRNA および shRNA の配列設計法を構築した。さらに、このような siRNA を用いて ES 細胞の再生能にかかわる機構の一部を明らかにした (原著論文 2, 3, 6)。

- ⑧ siRNA のシード領域を DNA に置換することによって熱力学的安定性を低下させ、オフターゲット効果を減弱させることが可能であることを明らかにした。このような siRNA は細胞毒性が少ないという利点を生かし、子宮頸癌を誘導するパピローマウイルスに対して適用可能な siRNA を選択した (原著論文 1)。

<原著論文>

1. Yamato K, Egawa K, Endo S, Ui-Tei K, Yamada T, Saigo K, Hyodo I, Kiyano T, *Nakagawa I; Enhanced specificity of HPV16 E6E7 siRNA by RNA-DNA chimera modification. **Cancer Gene Ther.** (印刷中)
2. Sasaki N, Shinomi M, Hirano K, Ui-Tei K, *Nishihara S; Lacdinac (Galnac β 1-4glnac) Contributes to Self-Renewal of Mouse Embryonic Stem Cells by Regulating LIF/STAT3 Signaling. **Stem Cells**, **29**, 641-650 (2011)
3. Tanaka F, Mochizuki T, Liang X, Asanuma H, Tanaka S, Suzuki K, Kitamura SI, Nishikawa A, Ui-Tei K, *Hagiya M; Robust and Photocontrollable DNA Capsules Using Azobenzenes. **Nano Lett.**, **10**, 3560-3565 (2010)
4. Taniue K, Nishida A, Hamada F, Sugie A, Oda T, Ui-Tei K, Tabata T, *Akiyama T; Sunspot, a link between Wingless signaling and endoreplication in *Drosophila*. **Development**, **137**, 1755-1764 (2010)
5. Hamada T, Teraoka M, Imaki J, Ui-Tei K, Ladherr R.K, *Asahara T; Gene expression of Spag6 in chick central nervous system. **Anat. Histol. Embryol.**, **39**, 227-32 (2010)
6. Naito Y, Yoshimura J, Morishita S, *Ui-Tei K; siDirect 2.0: updated software for designing functional siRNA with reduced seed-dependent off-target effect. **BMC Bioinformatics**, **10**, 392 (2009)
7. Nasu-Nishimura Y, Jaffe H, Isaac JT, *Roche KW; Differential regulation of kainate receptor trafficking by phosphorylation of distinct sites on GluR6. **J Biol Chem.**, **285**, 2847-2856. (2010)
8. Lussier MP, Nasu-Nishimura Y, *Roche KW; Activity-dependent ubiquitination of the AMPA receptor subunit GluA2. **J Neurosci.**, **31**(8):3077-81. (2011)
9. Funato K, Yamazumi Y, Oda T, *Akiyama T; The tyrosine phosphatase PTPRD suppresses colon cancer cell migration in coordination with CD44. **Exp. Ther. Med.**, **2**, 457-463. (2011)
10. Taniue K, Oda T, Hayashi T, Okuno M, *Akiyama T; A member of the ETS family, EHF, and the ATPase RUVBL1 inhibit p53-mediated apoptosis. **EMBO Rep.** (印刷中)

<総説>

1. Naito Y, Ui-Tei K. Designing functional siRNA with reduced off-target effects. **Methods Mol. Biol.** (印刷中)
2. 内藤雄樹、山田智之、程久美子、森下真一、西郷薫; 効率的な siRNA の設計 RNA 工学の基礎と応用, 104-113, (2010)
3. Narikawa K, Nishi K, Naito Y, Mazda M, Ui-Tei K. Genome-wide identification and analysis of miRNAs complementary to upstream of mRNA transcription start sites. **Gene Silencing: Theory Techniques and Applications**, Nova Science Publishers, pp287-319 (2010)
4. 内藤雄樹、程久美子; 培養細胞での遺伝子ノックダウン法 哺乳類細胞での標的遺伝子の特異的にノックダウンできる siRNA の選択法 改訂第 5 版 新遺伝子工学ハンドブック pp209-214 (2010)
5. 西賢二、程久美子; 培養細胞での遺伝子ノックダウン法 siRNA および miRNA による遺伝子ノックダウン 改訂第 5 版 新遺伝子工学ハンドブック pp215-220 (2010)
6. Ui-Tei K, Naito Y, Zenno S, Nishi K, Juni A, Tanaka A, Saigo K. Bipartite roles of the central region of the siRNA guide strand in RNA interference due to modified siRNA with a DNA seed arm. **Res. Adv. Nucleic Acids Res.**, **3**, 1-17 (2009)
7. Naito Y, Saigo K, Ui-Tei K. Experimental validation of published siRNA design algorithms. **Small Interfering RNA: New Research**, 185-194 (2009)

計画研究 4

<研究代表者> 佐渡 敬（九州大学生体防御医学研究所）

<研究課題名> Xist RNA 作用マシナリーの調節機構

<主な研究成果概要>

哺乳類の遺伝子量補償を制御する高分子コード RNA である Xist とその作用マシナリーに着目し、不活性 X 染色体に局在する蛋白質が、Xist RNA の機能発現にどのように寄与しているかを解析し、以下の知見を得た。

- ① Xist RNA の機能欠損変異を持つマウス胚における X 染色体不活性化の異常について遺伝学的、分子生物学的に詳細な解析を行った（原著論文 5）。
- ② 体細胞クローンの成功率が低い主要な原因の一つは Xist 遺伝子のリプログラミングが正しく行われないことであることを明らかにし、これを操作することでクローン作製効率が飛躍的に改善することを示した（原著論文 2）。
- ③ 生殖細胞の分化と piRNA の合成に必要なヌアージュの形成に、オスの場合 MITOPLD という生殖細胞のミトコンドリア膜 に存在するホスホリパーゼ酵素による脂質代謝が必須であることを示した（原著論文 3）。
- ④ 精子形成過程で確立されるインプリント遺伝子 Rasgrf1 の DNA メチル化に piRNA と Rasgrf1 プロモーター領域から転写されるノンコーディング RNA が必要であることを明らかにした（原著論文 4）。

<原著論文>

1. Inoue K, Ogonuki N, Mekada K, Yoshiki A, Sado T, *Ogura A; Sex-reversed somatic cell cloning in the mouse. **J. Reprod. Dev.**, 55, 566-569, (2009).
2. Inoue, K, Kohda T, Sugimoto M, Sado T, Ogonuki N, Matoba S, Shiura H, Ikeda R, Mochida K, Fujii T, Sawai K, Otte AP, Tian XC, Yang X, Ishino F, Abe K, *Ogura A; Impeding Xist Expression from the Active X Chromosome Improves Mouse Somatic Cell Nuclear Transfer. **Science**, 330, 496 - 499. (2010)
3. *Watanabe T, Chuma S, Yamamoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Totoki Y, Toyoda A, Hoki Y, Fujiyama A, Shibata T, Sado T, Noce T, Nakano T, Nakatsuji N, Lin H, *Sasaki H; MitoPLD is a mitochondrial protein essential for nuage formation and piRNA biogenesis in the mouse germline. **Dev. Cell** 20, 364-375, (2011).
4. Watanabe T, Tomizawa S, Mitsuya K, Totoki Y, Yamamoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Iida N, Hoki Y, Murphy PJ, Toyoda A, Gotoh K, Hiura H, Arima T, Fujiyama A, Sado T, Shibata T, Nakano T, Lin H, Ichianagi K, Soloway PD, *Sasaki H; Role for piRNAs and non-coding RNA in de novo DNA methylation of the imprinted mouse Rasgrf1 locus. **Science** 332, 848-852, (2011).
5. Hoki Y, Ikeda R, Mise N, Sakata Y, Ohhata O, Sasaki H, Abe K, *Sado T; Incomplete X-inactivation initiated by a hypomorphic *Xist* allele in the mouse. **Development**, 138, 2649-2659, (2011).

<総説>

1. 佐渡 敬, 佐々木裕之; 哺乳類のエピジェネティクス, **生物の科学: 遺伝**, 63, 65-70 (2009)
2. 佐渡 敬; 細胞核内機能性RNA「Xist」: その機能と制御はどこまでわかったか?, **実験医学増刊号「細胞核—遺伝情報制御と疾患」** 27(17), 139-145 (2009)
3. 佐渡 敬; X染色体不活性化のエピジェネティクス. **実験医学増刊号 エピジェネティクスと疾患 基礎メカニズムと解析手法の最新知見からがん・神経・代謝・アレルギー疾患などへの応用まで** 28(15), 76-80 (2010)
4. 佐渡 敬; ノンコーディングRNAによるエピジェネティック制御機構 設計図にはないような細胞機能を生み出す仕組み, **細胞工学** (印刷中)

5. 佐渡 敬. 哺乳類X染色体のエピジェネティック制御とノンコーディングRNA. 医学のあゆみ (印刷中)

計画研究 5

<研究代表者> 中澤敬信 (東京大学大学院医学系研究科)

<研究分担者> 宮川さとみ (大阪大学生命機能研究科)

<研究課題名> 高次生命現象における時空間的な小分子 RNA の生理機能解析

<主な研究成果概要>

高次生命現象における非コード小分子 RNA 作用マシナリーの重要性を理解することを目的として、神経細胞の形態形成および精子形成過程における小分子 RNA の機能解析を行い、以下の知見を得た。

- ⑤ 神経細胞の形態形成に関与する miRNA のスクリーニングを行い、複数の miRNA を同定した。これら miRNA の一部は、TGFβ、IGF-I、BDNF などの液性因子あるいはラミニンやファイブロネクチンといった細胞外基質によって制御されていた。
- ⑥ マウスの生殖細胞特異的な RNA ヘリカーゼである MVH (mouse VASA homologue) 遺伝子欠損マウスの解析から、MVH が piRNA の産生場として考えられている生殖顆粒の構造の維持と piRNA の 2 次産生機構に関与することを明らかにした (原著論文 6)。
- ⑦ MILI 欠損マウス由来の精巣より、GS 細胞 (germ stem cell) を単離し解析をおこなったところ、MILI が piRNA の生合成とトランスポゾンの発現抑制に寄与していることが示唆された。

<原著論文>

1. Taniguchi S, *Nakazawa T, Tanimura A, Kiyama Y, Tezuka T, Watabe AM, Katayama N, Yokoyama K, Inoue T, Izumi-Nakaseko H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y, Umemori H, Inoue T, Murphy PN, Hashimoto K, Kano M, Manabe T, Yamamoto T; Involvement of NMDAR2A tyrosine phosphorylation in depression-related behavior. **EMBO J.**, 28, 3717-3729 (2009).
2. Chagnon MJ, Wu CL, Nakazawa T, Yamamoto T, Noda M, Blanchetot C, Tremblay ML; Receptor tyrosine phosphatase sigma (RPTPsigma) regulates, p250GAP, a novel substrate that attenuates Rac signaling. **Cell Signal.**, 22, 1626-1633 (2010).
3. Matsumura S, Kunori S, Mabuchi T, Katano T, Abe T, Nakazawa T, Yamamoto T, Ashitaka-Okuda E, Ito S; Impairment of CaMKII activation and neuropathic pain in mice lacking NR2B phosphorylation at Tyr-1472. **Eur. J. Neurosci.**, 32, 798-810 (2010).
4. Delawary M, Tezuka T, Kiyama Y, Yokoyama K, Inoue T, Hattori S, Hashimoto R, Umemori H, Manabe T, Yamamoto T, *Nakazawa T; NMDAR2B tyrosine phosphorylation modulates anxiety-like behavior by regulating CRF expression. **Mol. Brain** 3, 37 (2010).
5. Katano T, Nakazawa T, Nakatsuka T, Watanabe M, Yamamoto T, Ito S; Involvement of spinal phosphorylation cascade of Tyr1472-NR2B, Thr286-CaMKII, and Ser831-GluR1 in neuropathic pain. **Neuropharmacology** 60, 609-616 (2011).
6. Kuramochi-Miyagawa S, Watanabe T, Gotoh K, Takamatsu K, Chuma S, Kojima-Kita K, Shiromoto Y, Asada N, Toyoda A, Fujiyama A, Totoki Y, Shibata T, Kimura T, Nakatsuji N, Noce T, Sasaki H, and Nakano T. MVH in piRNA Processing and Gene Silencing of Retrotransposons **Genes Dev.**, 23, 887-892 (2010)
7. Watanabe T, Tomizawa S, Mitsuya K, Totoki Y, Yamamoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Iida N, Hoki Y, Murphy PJ, Toyoda A, Gotoh K, Hiura H, Arima T, Fujiyama A, Sado T, Shibata T, Nakano T, Lin H, Ichiiyanagi K, Soloway PD, Sasaki H. Role for piRNAs and noncoding RNA in de novo DNA methylation

- of the imprinted mouse *Rasgrf1* locus. **Science**, 332, 848-52 (2011)
8. Watanabe T, Chuma S, Yamamoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Totoki Y, Toyoda A, Hoki Y, Fujiyama A, Shibata T, Sado T, Noce T, Nakano T, Nakatsuji N, Lin H, Sasaki H. MITOPLD is a mitochondrial protein essential for nuage formation and piRNA biogenesis in the mouse germline. **Dev. Cell**, 20, 364-75 (2011)

<総説>

1. 宮川-倉持さとみ ; small RNAによるレトロエレメントの抑制機構, **生体の科学**, 61 (2010)

計画研究 6

<研究代表者> 影山裕二 (自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

<研究分担者> 中川真一 (理化学研究所・中川 RNA 生物研究室)

<研究課題名> 遺伝学的アプローチによる高分子量非コード RNA 作用マシナリーの生理機能解析

<主な研究成果概要>

高次生命現象における非コード RNA 作用マシナリーの役割と重要性を理解するため、ショウジョウバエおよびマウスをモデル系とした遺伝学的解析を行い、以下の知見を得た。

- ⑧ ショウジョウバエの中枢神経系に発現する高分子非コード RNA である MRE32 について変異体を作製し、発生遅延が見られることを明らかにした。また、上記の研究過程で、短鎖ペプチドをコードする遺伝子 *polished rice* 遺伝子を見出し、上皮細胞の突起形成を支配する転写因子 Shavenbaby の活性制御を行っていることを明らかにした (原著論文 1)。
- ⑨ マウスの遺伝子量補償を制御する Xist RNA の局在を制御する因子のスクリーニングを行い、hnRNP U を同定した。また、hnRNP U の機能が不活性化 X 染色体の形成に必須であることを明らかにした (原著論文 2)。
- ⑩ 核内構造体パラスペックルの骨格として機能している非コード RNA、MENe/b のノックアウトマウスを作製し、外見上顕著な異常を示さないことを見いだした。また、哺乳類の培養細胞では普遍的なものであると考えられてきたパラスペックルが、マウス生体内ではごく限られた一部の細胞でのみ見られる特殊な核内構造体であることを明らかにした (原著論文 3)。
- ⑪ マウスの神経系で特異的に発現し個体の行動を制御する非コード RNA、Gomafu と結合するタンパク質を探索し、ブランチ部位結合タンパク質である SF1 を同定した。また、Gomafu RNA の配列が試験管内でのスプライシング反応を遅延させることを見いだした。(原著論文 4)。

<原著論文>

1. Kondo T, Plaza S, Zanet J, Benrabah E, Valenti P, Hashimoto Y, Kobayashi S, *Payre F, *Kageyama Y; Small peptides switch the transcriptional activity of Shavenbaby during Drosophila embryogenesis. **Science** 329, 336-339 (2010)
2. Hasegawa Y, Brockdorff N, Kawano S, Tsutui K, Tsutui K, *Nakagawa S; The matrix protein hnRNP U is required for chromosomal localization of Xist RNA. **Dev Cell**. 19, 469-76 (2010)
3. *Nakagawa S, Naganuma T, Shioi G, Hirose T; Paraspeckles are subpopulation-specific nuclear bodies that are not essential in mice. **J Cell Biol** 193, 31-39 (2011).
4. Tsuiji H, Yoshimoto R, Hasegawa Y, Furuno M, Yoshida M, and *Nakagawa S; Competition between a noncoding exon and introns: Gomafu contains tandem UACUAAC repeats and associates with splicing factor-1. **Genes Cells**, 16, 479-490 (2011).

<総説>

1. Y. Kageyama, T. Kondo and Y. Hashimoto; Coding vs Non-coding: Translatability of Short ORFs Found in Putative Non-coding Transcripts. **Biochimie** (印刷中)
2. 近藤武史、影山裕二; 短鎖ペプチドによる転写因子Shavenbabyの活性制御 **実験医学** 28, 3132-3136 (2010)
3. Nakagawa S, Prasanth KV; eXIST with Matrix Associated Proteins. **Trends Cell Biol.** (印刷中) .
4. Hasegawa Y, Nakagawa S; Revisiting the function of nuclear scaffold/matrix binding proteins in X chromosome inactivation. **RNA Biol**, in press (2011)
5. 中川真一; 核内構造体に活躍の場を求めたノンコーディングRNAたち **細胞工学**, 印刷中 (2011)
6. 中川真一、影山裕二; 長鎖ncRNA研究のはじまりの終わり **実験医学**, 29 (11),印刷中 (2011)
7. 中川真一; 進化的に「新しい」バイオマテリアル-核内mRNA型noncoding RNAに何が出来るのか **実験医学**, 28, 1496-1501 (2010)
8. 中川真一; 核内高分子ノンコーディングRNAの世界 **生化学**, 82, 42-46 (2010)

<新聞発表等>

東京新聞 (3 面) 2010 年 7 月 16 日 ; 中日新聞 (27 面) 2010 年 7 月 16 日 ; 日刊工業新聞 (22 面) 2010 年 7 月 16 日 ; 日経産業新聞 (12 面) 2010 年 7 月 22 日 ; 毎日新聞 (15 面) 2010 年 7 月 27 日

計画研究 7

<研究代表者> 和田猛 (東京大学・新領域創成科学研究科)

<研究分担者> 竹下文隆 (国立がんセンターがん転移研究室)

<研究課題名> 非コード RNA 作用マシナリーの医薬応用

<主な研究成果概要>

非コード RNA の核酸医薬への応用を目指し、リン原子の立体が厳密に制御された光学活性ホスホロチオエート RNA の実用的合成法を開発した。また、ヒト由来がん細胞や、がんモデル動物を用いてホスホロチオエート RNA が、非コード RNA マシナリーおよび治療効果に与える影響を検討し、以下の知見を得た。

- ① RNA 医薬に有効な 2'-水酸基の保護基としてシアノエトキシメチル基を用い、4 種類の核酸塩基を有する光学活性ホスホロチオエート RNA オリゴマーの効率的固相合成法を確立した (特許出願済、学会発表済)。
- ② RNA 医薬に有効な新規 2'-水酸基の修飾官能基として、電子求引基を有するアルコキシエチル基が有効であることを見出した (特許出願済、学会発表済)。
- ③ リン原子の立体が厳密に制御されたホスホロチオエート異性体の導入により、二重鎖の熱的安定性が大きく変化することを見出した (特許出願済、学会発表済)。
- ④ small interfering RNA (siRNA) や microRNA (miRNA) をがんモデル動物に投与することにより、がん細胞の増殖、転移、に対する抑制効果、老化などの生理作用およびそれらの分子機序について検討した (原著論文 14,15,16,18,19)。
- ⑤ 光学非活性のホスホロチオエート化 siRNA において、配列上の PS 結合位置により遺伝子抑制効果が減弱または増強されることを明らかにした。
- ⑥ 生体内における siRNA の動態、安定性を検討するため、動物組織に残存する微量 siRNA の定量が可能な系を確立した。

<原著論文>

1. Iwamoto N, Oka N, *Wada T; Stereocontrolled synthesis of oligodeoxyribonucleoside boranophosphates via stereodefined H-phosphonate intermediates. **Nucleic Acids Symp. Ser.**, 53, 9-10 (2009)
2. Oka N, Higashida R, Takayama Y., Ando K, *Wada T; Chemical synthesis of nucleoside H-boranophosphonates and their application as precursors of P-modified nucleotide analogues. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 53, 111-112 (2009)
3. Iwata R, Sudo M, Nagafuji K, *Wada T; Stabilization of A-type nucleic acid duplexes by novel oligodiaminosaccharides. **Nucleic Acids Symp. Ser.**, 53, 113-114 (2009)
4. Oka N, Maizuru Y, Shimizu M, *Wada T; Solid-phase synthesis of oligodeoxyribonucleotides without base protection utilizing *O*-selective reaction of oxazaphospholidine derivatives. **Nucleos. Nucleot. Nucl. Acids**, 29, 144-154 (2010)
5. Matsumura F, Tatsumi S, Oka N, *Wada T; Rapid glycosylation under extremely mild acidic conditions. Use of ammonium salts to activate glycosyl phosphites via P-protonation. **Carbohydr. Res.**, 345, 1211-1215 (2010)
6. Masuda H, Watanabe N, Naruoka H, Nagata S, Takagaki K, Wada T, *Yano J; Synthesis, gene-silencing activity and nuclease resistance of 3'-3'-linked double short hairpin RNA. **Bioorg Med. Chem.**, 18, 8277-8283 (2010)
7. Nagata S, Hamasaki T, Uetake K, Masuda H, Takagaki K, Oka N, Wada T, Ohgi T, *Yano J; Synthesis and biological activity of artificial mRNA prepared with novel phosphorylating reagents. **Nucleic Acids Res.**, 38, 7845-7857 (2010)
8. Sato K, Oka N, Fujita S, Matsumura F, *Wada T; 1,2-*trans*-selective synthesis of Glycosyl Boranophosphates and their utility as building blocks for the synthesis of phosphodiester-linked disaccharides. **J. Org. Chem.**, 75, 2147-2156 (2010)
9. Ikeuchi Y, Kimura S, Numata T, Nakamura D, Yokogawa T, Ogata T, Wada T, Suzuki T, *Suzuki T; Agmatine-conjugated cytidine in a tRNA anticodon is essential for AUA decoding in archaea. **Nat. Chem. Biol.**, 6, 277-282 (2010)
10. Fujita S, Oka N, Matsumura F, *Wada T; Synthesis of Oligo(α -D-glycosyl phosphate) Derivatives by a Phosphoramidite Method via Boranophosphate Intermediates. **J. Org. Chem.**, 76, 2648-2659 (2011)
11. Uchiyama N, Ogata T, Oka N, *Wada T; Trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate-promoted reductive 2'-*O*-arylmethylation of ribonucleoside derivatives. **Nucleos. Nucleot. Nucl. Acids** (印刷中)
12. Honma K, Takemasa I, Matoba R, Yamamoto Y, Takeshita F, Mori M, Monden M, Matsubara K, *Ochiya T; Screening of potential molecular targets for colorectal cancer therapy. **Int. J. General Med.**, 2, 243-257 (2009)
13. Takeshita F, Hokaiwado N, Honma K, Banas A, *Ochiya T; Local and systemic delivery of siRNAs for oligonucleotides therapy. **Methods Mol. Biol.**, 487, 83-92 (2009)
14. Tanooka H, Tatsumi K, Tsuji H, Noda Y, Katsube T, Ishii H, Ootsuyama A, Takeshita F, *Ochiya T; Mutant mouse p53 transgene elevates the chemical induction of tumors that respond to gene silencing with siRNA. **Cancer Gene Ther.**, 17, 1-10 (2010)
15. Takeshita F, Patrawala L, Osaki M, Takahashi R, Yamamoto Y, Kosaka N, Kawamata M, Kelnar K, Bader AG, Brown D, *Ochiya T; Systemic delivery of synthetic microRNA-16 inhibits the growth of metastatic prostate tumors via downregulation of multiple cell cycle genes. **Mol. Ther.**, 18, 181-187 (2010)
16. Satow R, Shitashige M, Kanai Y, Takeshita F, Ojima H, Jigami T, Honda K, Kosuge T, Ochiya T, Hirohashi S, *Yamada T; Combined Functional Genome Survey of Therapeutic Targets for Hepatocellular Carcinoma. **Clin. Cancer Res.**, 16, 2518-2528 (2010)
17. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, *Ochiya T; Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. **J. Biol. Chem.**, 285, 17442-17452 (2010)
18. Xu D, Takeshita F, Hino Y, Fukunaga S, Kudo Y, Tamaki A, Matsunaga J, Takahashi RU, Takata T, Shimamoto A, Ochiya T, *Tahara H; miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence. **J. Cell. Biol.**, 193, 409-424 (2011)
19. Osaki, M., Takeshita, F., Sugimoto, Y., Kosaka, N., Yamamoto, Y., Yoshioka, Y., Kobayashi, E., Yamada,

- T., Kawai, A., Inoue, T., Ito, H., Oshimura, M., *Ochiya, T. MicroRNA-143 Regulates Human Osteosarcoma Metastasis by Regulating Matrix Metalloprotease-13 Expression. **Mol. Ther.** (印刷中)
20. Narumi K, Udagawa T, Kondoh A, Kobayashi A, Hara H, Ikarashi Y, Ohnami S, Takeshita, F, Ochiya T, Okada T, Yamagishi M, Yoshida T, *Aoki K; In vivo delivery of interferon- α gene enhances tumor immunity and suppresses immunotolerance in reconstituted lymphopenic hosts. **Gene Ther.** (印刷中)

<総説>

1. Oka N, Wada T; Stereocontrolled Synthesis of Oligonucleotide Analogs Containing Chiral Internucleotide Phosphorus Atoms. **Chem. Soc. Rev.** (印刷中)
2. 竹下文隆、落谷孝広; RNAi創薬 **最新医学**, 64, 2169-2175 (2009)
3. 竹下文隆、落谷孝広; 癌の薬剤耐性とmicroRNA **実験医学**, 27, 1208-1212 (2009)
4. 竹下文隆、落谷孝広; マイクロRNAの制御異常とがん **試料分析講座**, 印刷中 (2011)

<特許>

1. 和田猛 他; リボヌクレオシドホスホロチオエートの製造方法. (PCT/JP2011/055018)
2. 和田猛 他; 糖1-リン酸誘導体の立体選択的製造方法. (特願2011-048824)
3. 和田猛 他; 2'-O-修飾RNA. 2010.11.30 出願 (US61/418,384)
4. 和田猛 他; CHIRAL AUXILIARY GROUP. (US61/386,016)
5. 和田猛 他; NOVEL PROTECTIVE GROUP FOR PREPARATION OF RNA OR DERIVATIVE THEREOF. (US12/882,390, PCT/JP2010/065900)
6. 和田猛 他; リボヌクレオシドホスホロチオエートの製造方法. (特願2010-048824)
7. 和田猛 他; リボヌクレシドH-ボラノホスホネート. (特願2010-048823)
8. 和田猛 他; リン酸化試薬. (特願2010-010260)
9. 和田猛 他; オリゴアミノ糖化合物. (PCT/JP2010/054282)
10. 和田猛 他; 二重鎖RNA結合性オリゴアミノ糖. (12/659425)
11. 和田猛 他; 糖1-リン酸化合物の製造方法. (特願2010-050194)
12. 和田猛 他; METHOD FOR THE SYNTHESIS OF PHOSPHORUS ATOM MODIFIED NUCLEIC ACIDS. (PCT/IB2009/07923)

<国民との科学・技術対話>

1. 東京大学柏キャンパス・オープンキャンパス 2009年10月、2010年10月
2. 国立がん研究センター研究所オープンキャンパス 2010年2月、2011年2月

A01 公募研究

公募研究 1

<研究代表者> GOTO Derek (北海道大学・創成研究機構)

<研究課題名> 宿主感染に関与する寄生線虫の非コード RNA マシナリーの機能解明

<主な研究成果概要>

寄生性線虫により誘導される植物宿主細胞のリプログラミング機構における、非コード RNA マシナリーの役割を解析し、以下の知見を得た。

- ① 非寄生性線虫では検出されない新規の microRNA を寄生性線虫が持っていることを明らかにした。
- ② 植物細胞内での寄生性線虫の RNA の機能を解明するため、寄生性線虫の分泌液を高純度に調製する系を構築し、調製した分泌物が異常な核分裂細胞周期を引き起こすための十分な活性を有すること、これらの分泌物に大量の小分子 RNA が含まれていることを確認した。

<原著論文>

1. *Onoue N, Yamashita Y, Nagao N, Goto DB, Onouchi H, Naito S; S-Adenosyl-L-methionine induces compaction of nascent peptide chain inside the ribosomal exit tunnel upon translation arrest in the *Arabidopsis CGSI* gene. **J. Biol. Chem.**, 286, 14903-14912 (2011)
2. Zaratiegui M, Vaughn MW, Irvine DV, Goto D, Watt S, Bahler J, Arcangioli B, *Martienssen RA; CENP-B preserves genome integrity at replication forks paused by retrotransposon LTR. **Nature**, 460, 112-115 (2011)
3. *Goto DB, Fosu-Nyarko J, Sakuma F, Sadler J, Flottman-Reid M, Uehara T, Kondo N, Yamaguchi J, Jones MGK; In planta observation of live fluorescent plant endoparasitic nematodes during early stages of infection. **Nematological Res.**, 40, 17-19 (2010)

<総説>

1. Jones MGK & Goto DB; Root knot nematodes and giant cells. *In: Exploiting genomics and molecular biology to understand plant-nematode interactions*. Eds: J. Jones, G. Gheysen, C. Fenoll. Springer, London. pp 83-100.

<国民との科学・技術対話>

1. 一般公開講義「人類の食料の略奪者：寄生センチュウ」2010年6月6日
2. 高校生対象「未来の科学者養成講座」における研究指導 2010年9月～2011年7月

<新聞発表等>

毎日新聞（18面）2010年11月26日；豪州工学アカデミー国際活動ニューズレター 2011年3月（オーストラリア発行）；北海道大学「知のフロンティア」2010年10月

公募研究 2

<研究代表者> 勝間進（東京大学大学院・農学生命科学研究科）

<研究課題名> piRNA の機能解析に基づくカイコの性決定機構の解明

<主な研究成果概要>

高次生命現象における非コード RNA 作用マシナリーの役割と重要性を理解するため、カイコをモデル系とした piRNA に関する研究を行い、以下の知見を得た。

- ① 染色体変異系統と次世代シーケンサーを利用して、カイコの雌性決定染色体である W 染色体から産生される piRNA 群を同定した。
- ② カイコの胚発生ステージ別に作製した piRNA ライブラリーの解析から、母性 piRNA がトランスポゾン mRNA を分解する過程を初めてモニターすることに成功した（**原著論文 1**）。
- ③ piRNA 生合成マシナリーを完全に保存したカイコ培養細胞 BmN4 を用いて、piRNA 生合成の最初のステップであるトリミング反応を再構成することに成功した。また、カイコ培養細胞 BmN4 を用いて、トランスジーンが piRNA 経路に認識されるメカニズムの一端を解明した。

<原著論文>

1. Kawaoka S, Arai Y, Kadota K, Suzuki Y, Hara K, Sugano S, Shimizu K, Tomari Y, Shimada T, *Katsuma S; Zygotic amplification of secondary piRNAs during the silkworm embryogenesis. **RNA**（印刷中）
2. Fujii T, Ito K, Tatematsu M, Shimada T, Katsuma S, *Ishikawa Y; Sex pheromone desaturase functioning in a primitive *Ostrinia* moth is cryptically conserved in congeners' genomes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, 108, 7102-7106 (2011)
3. Iwasaki S, Kobayashi M, Yoda M, Sakaguchi Y, Katsuma S, Suzuki T, *Tomari Y; Hsc70/Hsp90 chaperone

- machinery mediates ATP-dependent RISC loading of small RNA duplexes. **Molecular Cell**, 2010, 39, 292-299.
4. Daimon T, Hirayama S, Kanai M, Ruike Y, Meng Y, Kosegawa E, Nakamura M, Tsujimoto G, Katsuma S, *Shimada T; The silkworm *Green b* locus encodes a quercetin 5-O-glucosyltransferase that produces green cocoons with UV-shielding properties. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 107, 11471-11476 (2010)
 5. *Niwa R, Namiki T, Ito K, Shimada-Niwa Y, Kiuchi M, Kawaoka S, Kayukawa T, Banno Y, Fujimoto Y, Shigenobu S, Kobayashi S, Shimada T, Katsuma S, Shinoda T; *Non-molting glossy/shroud* encodes a short-chain dehydrogenase/reductase that functions in the "Black Box" of the ecdysteroid biosynthesis pathway. **Development**, 137, 1991-1999 (2010)
 6. *Katsuma S, Tsuchida A, Imai-Matsuda N, Kang W-K, Shimada T; Role of the ubiquitin-proteasome system in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection. **J. Gen. Virol.**, 92, 699-705 (2011)
 7. *Katsuma S, Kang W-K, Shin-i T, Ohishi K, Kadota K, Kohara Y, Shimada T; Mass identification of transcriptional units expressed from the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus genome. **J. Gen. Virol.**, 92, 200-203 (2011)
 8. Kokusho R, Zhang C-X, Shimada T, *Katsuma S; Comparative analysis of budded virus infectivity of *Bombyx mandarina* and *B. mori* nucleopolyhedroviruses. **Virus Genes** (印刷中)
 9. Kiuchi T, Banno Y, Katsuma S, *Shimada T; Mutations in an amino acid transporter gene are responsible for sex-linked translucent larval skin of the silkworm, *Bombyx mori*. **Insect Biochem. Mol. Biol.** (印刷中)
 10. Tabunoki H, Ode H, Banno Y, Katsuma S, Shimada T, Mita K, Yamamoto K, Sato R, Ishii-Nozawa R, *Sato H-J; BmDJ-1 is a key regulator for the developmental oxidative modification of the silkworm, *Bombyx mori*. **PLoS One**, 6, e17683 (2011)
 11. Fujii T, Abe H, Katsuma S, *Shimada T., Identification and characterization of the fusion transcript, composed of the *apterous* homolog and a putative protein phosphatase gene, generated by 1.5-Mb interstitial deletion in the vestigial (Vg) mutant of *Bombyx mori*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, 2011, 41, 306-312.
 12. Urano K, Daimon T, Banno Y, Mita K, Terada T, Shimizu K, Katsuma S, *Shimada T., Molecular defect of isovaleryl-CoA dehydrogenase in the skunk mutant of silkworm, *Bombyx mori*. **FEBS Journal**, 2010, 277, 4452-4463.
 13. Nakanishi T, Shimada T, *Katsuma S., Characterization of a *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus mutant lacking both *fp25K* and *p35*. **Virus Genes**, 2010, 41, 144-148.

<新聞発表等>

日経産業新聞 2010 年 6 月 1 日 ; 化学工業日報 2010 年 6 月 1 日 ; 日刊工業新聞 2010 年 6 月 1 日

公募研究 3

<研究代表者> 松本高広 (徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)

<研究課題名> miRNA を介した雄性化機構の分子基盤の解明

<主な研究成果概要>

哺乳類の性差形成における非コード RNA 作用マシナリーの役割と重要性を理解するため、Y 染色体遺伝子 DBY に着目した解析を行い、以下の知見を得た。

- ① 胎生期の野生型マウスの雌雄間で雄性特異的に発現量の高い miRNA が約 140 種同定し、miRNA 発現量には性差が存在することを明らかにした。
- ② DBY 遺伝子産物が Drosha 複合体と相互作用することを見出し、上記 miRNA 群の中から DBY のノックダウンにより発現量が低下する miRNA を同定した。またこれら miRNA 群の pri-miRNA から pre-miRNA へのプロセッシングが実際に DBY により促進することが in

vitro processing assay により実証された。

<原著論文>

1. Takahashi S, Watanabe T, Okada M, Inoue K, Ueda T, Takada I, Watabe T, Yamamoto Y, Fukuda T, Nakamura T, Akimoto C, Fujimura T, Hoshino M, Imai Y, Metzger D, Miyazono K, Minami Y, Chambon P, Kitamura T, Matsumoto T, *Kato S; Noncanonical Wnt signaling mediates androgen-dependent tumor growth in a mouse model of prostate cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, 108, 4938-4943 (2011)
2. Murashima A, Miyagawa S, Ogino Y, Nishida-Fukuda H, Araki K, Matsumoto T, Kaneko T, Yoshinaga K, Yamamura K, Kurita T, Kato S, Moon AM, *Yamada G. Essential roles of androgen signaling in wolffian duct stabilization and epididymal cell differentiation. **Endocrinology**, 152, 1640-1651 (2011)
3. Akimoto C, Ueda T, Inoue K, Yamaoka I, Sakari M, Obara W, Fujioka T, Nagahara A, Nonomura N, Tsutsumi S, Aburatani H, Miki T, Matsumoto T, Kitagawa H, *Kato S. TSPY represses the activity of the androgen receptor in androgen-dependent testicular germ cell tumors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, 107, 19891-19896 (2010)

<新聞発表等>

日本経済新聞 (13 面) 2011 年 3 月 8 日 ; 東京新聞 (Tokyo Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 中日新聞 (Chunichi Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 神戸新聞 (Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 西日本新聞 (Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 静岡新聞 (Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 福井新聞 (Web) 2011 年 3 月 8 日 ; 宮崎日日新聞 (Web) 2011 年 3 月 8 日

公募研究 4

<研究代表者> 秋光信佳 (東京大学アイソトープ総合センター)

<研究課題名> 哺乳動物細胞の核内非コード RNA 分解経路に関する研究

<主な研究成果概要>

哺乳類の核内局在型高分子非コード RNA を対象に、RNA 分解経路について解析し、以下の知見を得た。

- ① 細胞核に局在する長鎖 ncRNA である MALAT1 が細胞運動性を促進することを見出した (原著論文 1)。さらに、MALAT1 は細胞ごとに RNA 分解速度が異なっており、なんらかの分解制御を受けていることを示唆する知見を得た (原著論文 2)。
- ② 転写阻害剤を使用しない新しい RNA 分解測定手法を開発した (特許 1)。この手法を用いて、whole transcriptome レベルでの RNA 分解を測定し、11,052 種類の mRNA の分解半減期と 1,389 種類の ncRNA の分解半減期を決定した。ncRNA に着目して解析した結果、エピジェネティック制御に関係した ncRNA である H19、HOTAIR、ANRIL などの分解速度が比較的早いことを見出した。
- ③ 核内 RNA 分解因子候補を系統的にノックダウン解析した結果、5'-3'方向分解複合体 exosome が NEAT1/MENε/β, ANRIL, H19, HOTAIR を分解制御していることを明らかにした。

<原著論文>

1. Tano K., Mizuno R., Okada T., Rakwal R., Shibato J., Masuo Y., Ijiri K. *Akimitsu N; MALAT-1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes. **FEBS letters**, 584, 4575-4580 (2010)
2. Tani H., Nakamura Y., Ijiri K. *Akimitsu N; Stability of MALAT-1, a nuclear long non-coding RNA in

mammalian cells, varies in various cancer cells. **Drug Discoveries Ther.**, 4, 235-239 (2010)

<総説>

1. 秋光信佳; 機能性ノンコーディングRNAによる核内遺伝子発現の制御、**理大科学フォーラム**、323、28-31 (2011)
2. 秋光信佳; 核内長鎖ncRNAによるスプライシング・転写制御、**細胞工学**, 印刷中 (2011)

<特許>

1. 修飾核酸を用いた細胞内RNA量の変化の測定方法 (特願2010-152640)

<新聞発表等>

Biotechnology Japan on line news, 2011年5月19日

公募研究 5

<研究代表者> 小林 慎 (東京医科歯科大学・難治疾患研究所)

<研究課題名> X染色体の不活化と機能性非コードRNAの解析

<主な研究成果概要>

非コードRNAが関与する高次生命現象の代表例である、X染色体の不活性化の機構を明らかにするため、不活化開始時期の着床前の胚に注目し、雄胚と雌胚の間でsmall RNAの発現を比較し、以下の知見を得た。

- ① 雌雄の胚盤胞からsmall RNAを回収しライブラリーを作製、次世代シーケンサーで解析を行ったところ、雌のみで発現する2種のsmall RNAを見つけることに成功した。さらに、これらのmiRNAを産生するpri-miRNAの発現アレルについて解析したところ、これらがインプリントをうけ父親由来のX染色体のみから発現するmiRNAであることを明らかにした。
- ② 上記のインプリントを受けるmiRNAの周辺を解析したところ、新たに雌でのみ発現する長いncRNAを見つけることに成功した。このncRNAもXist同様、この時期に父親由来のX染色体からのみ発現することを明らかにした。

<原著論文>

1. *Kobayashi S, Fujihara Y, Mise N, Kaseda K, Abe K, Ishino F, Okabe M; The X-linked Imprinted Gene Family *Fthl17* Shows Predominantly Female Expression Following the 2-cell Stage in Mouse Embryos. **Nucleic Acids Res.**, 38, 3672-81. (2010)

公募研究 6

<研究代表者> 堀家 慎一 (金沢大学・フロンティアサイエンス機構)

<研究課題名> 核マトリックスを介した長鎖ncRNA, UBE3A-ATSのクロマチン制御機構

<主な研究成果概要>

15q11-q13領域から転写される高分子非コードRNAであるUBE3A-ATSを対象に、高分子非コードRNAによる高次クロマチン形成の制御機構を解析し、以下の知見を得た。

- ① 父方由来あるいは母方由来のヒト15番染色体を保持したニワトリDT40細胞において、UBE3A-ATSのプロモーターとなるCpGアイランドを欠失させた後、マウス神経細胞に移入

し、FISH法を用いて15q11-q13領域のクロマチン構造を解析するシステムを確立した。

- ② 上記システムを用い、UBE3A-ATSが本来発現する父方由来の染色体ではCpGアイランドがUBE3A-ATSの発現必須であること、UBE3A-ATSが発現していない母方由来の染色体ではクロマチンの凝縮に必要であることを明らかにした。また、父方由来染色体上でUBE3A-ATSの発現の消失と共に、約1Mb離れた領域のMAGEL2遺伝子の発現消失も誘導されることから、UBE3A-ATSがcisに遺伝子発現を制御しており、その影響は染色体ドメインレベルに及ぶことが示唆された。

<原著論文>

1. Hori N, Nagai M, Hirayama M, Hirai T, Matsuda K, Hayashi M, Tanaka T, Ozawa T, *Horike S; Aberrant CpG Methylation of the Imprinting Control Region KvDMR1 Detected in Assisted Reproductive Technology-Produced Calves and Pathogenesis of Large Offspring Syndrome. **Animal Reprod. Sci.**, 122, 303-312 (2010)
2. Abe S, Tanaka H, Notsu T, Horike S, Fujisaki C, Qi D-L, Ohhira T, Gilley D, Oshimura M, *Kugoh H; Localization of an hTERT repressor region on human chromosome 3p21.3 using chromosome engineering. **Genome Integrity**, 1, 6 (2010)

<国民との科学・技術対話>

1. 一般対象まちなかサイエンスセミナー「若手が伝える最先端科学」2010年12月

公募研究 7

<研究代表者> 神武洋二郎（浜松医科大学・生化学第一講座）

<研究課題名> 癌化・老化を左右する新規非コードRNAの機能解析

<主な研究成果概要>

増殖・分化・アポトーシス・老化・癌化等の「細胞運命決定」における高分子非コードRNAの役割及びその作用メカニズムを解明するため、ヒトのINK4遺伝子座に存在する高分子非コードRNA、ANRILの機能解析及び新規高分子非コードRNAの網羅的探索を行い、以下の知見を得た。

- ① 癌抑制において重要な役割を担うINK4遺伝子座から転写されるANRILが、INK4遺伝子座の転写抑制に関与し、さらに細胞老化を抑制していることを明らかにした。またその作用メカニズムとして、ANRILがクロマチンサイレンシングに関与するポリコームタンパク質と結合し、INK4遺伝子座へのリクルートメントを促進することを明らかとした（**原著論文 2**）。
- ② 高解像度タイリングアレイ解析により、細胞周期制御遺伝子群（56個）の近隣に存在する216個の新規高分子非コードRNAを同定した。これらの非コードRNAのうち、DNA損傷シグナルによって発現誘導されるPANDA（p21-associated ncRNA, DNA-damage activated）がアポトーシスを抑制することを明らかにした。また、PANDAが転写因子NF-YAと結合し、アポトーシス促進遺伝子群プロモーター上へのNF-YA結合を阻害することによって、アポトーシス促進遺伝子群の転写を抑制していることを明らかにした（**原著論文 1**）。

<原著論文>

1. Hung T, Wang Y, Lin MF, Koegel AK, Kotake Y, Grant G, Horlings HM, Shah N, Umbricht C, Wang P, Wang Y, Kong B, Langerod A, Kim SK, van de Vijver MJ, Sukumar S, Whitfield ML, Kellis M, Xiong Y,

- Wong DJ, *Chang HY; Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs with cell cycle promoters. **Nat. Genetics** (印刷中)
2. Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, Suzuki S, Liu N, *Kitagawa M, Xiong Y; Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15^{INK4B} tumor suppressor gene. **Oncogene** 30, 1956-1962 (2011)
 3. Zeng Y, Kotake Y, Pei XH, Smith M, *Xiong Y; The function of p53 is required for the repression of Arf tumor suppressor by HDAC and Polycomb. **Cancer Res.**, 71, 2781-2792 (2011)
 4. Kitagawa K, Kotake Y, Hiramatsu Y, Liu N, Suzuki S, Nakamura S, Kikuchi A, *Kitagawa M; GSK3 regulates the expressions of human and mouse c-Myb via different mechanisms. **Cell Division** 5, 27 (2010)
 5. Fujiki T, Udono M, Kotake Y, Yamashita M, Shirahata S, *Katakura Y; NFAT5 regulates transcription of the mouse telomerase reverse transcriptase gene. **Exp. Cell Res.**, 316, 3342-3350 (2010)

<総説>

1. 神武洋二郎、北川雅敏; 長鎖ncRNAによるクロマチン修飾因子のリクルートメント機構. **実験医学**, (印刷中)
2. 神武洋二郎、北川雅敏; 長鎖ノンコーディングRNAと細胞老化. **細胞工学**, (印刷中)

公募研究 8

<研究代表者> 田原浩昭 (筑波大学・大学院人間総合科学研究科)

<研究課題名> 線虫の生殖細胞における新規小分子 RNA の作用マシナリーの解析

<主な研究成果概要>

生殖細胞は遺伝情報を次世代へ引き渡す重要な役割を担っており、減数分裂を行い配偶子を形成することによって個体発生の起点として機能する。線虫 *C. elegans* をモデル生物とし、生殖細胞で主に発現している小分子の非コード RNA に着目して生理学的役割や内在性の RNAi 類似反応との関係について解析を行った結果、以下の知見を得た。

- ① 小分子の非コード RNA のエフェクター複合体においては、RNA 切断活性を示す Argonaute 蛋白が重要な役割を果たしている。線虫における主要な RNA 切断活性を担う因子は Argonaute の一つである CSR-1 であることを以前の研究によって見いだしており、さらなる生化学的解析によって新たに RNA 切断活性を示す第二の Argonaute 蛋白を同定した。
- ② 上述の RNA 切断活性を示す 2 つの Argonaute 蛋白の生理学的役割を探索することを目的として、それらの蛋白と内在性の非コード RNA が形成しているエフェクター複合体を精製し、複合体に含まれる非コード RNA 集団の配列を次世代シーケンス法で解析した。それらの Argonaute 蛋白は mRNA 集団の一部に対して相補的な非コード RNA および性染色体の一領域に由来する非コード RNA と相互作用していたが、非コード RNA 集団の詳しい組成は複合体ごとに少し異なることも判明した。対応する変異体について表現型の解析を行った結果、両方の変異体共に雄の生殖細胞における性染色体の不活化に異常を示すことを確認した。

公募研究 9

<研究代表者> 三嶋 雄一郎 (神戸大学大学院・理学研究科)

<研究課題名> TNRC6 タンパク質の機能解析による micro RNA システムの動作原理の解明

<主な研究成果概要>

脊椎動物における microRNA システムの動作原理を解明するため、in vivo モデル系としてゼ

ブラフィッシュを用いた解析を行い、以下の知見を得た。

- ① microRNA による転写後抑制において中核的役割を担う TNRC6A タンパク質の機能解析を行い、TNRC6A が poly(A)鎖の短縮非依存的に翻訳の2つのステップを抑制することを明らかにした。
- ② 米国 Yale 大学の Antonio Giraldez 博士と共同で、ゼブラフィッシュ dicer 変異体と ago2 変異体における小分子 RNA の解析を行い、Dicer 非依存的かつ Ago2 依存的な新規 microRNA 産生経路が存在することを明らかにした。(原著論文1)。

<原著論文>

1. Cifuentes D, Xue H, Taylor DW, Patnode H, Mishima Y, Cheloufi S, Ma E, Mane S, Hannon GJ, Lawson N, Wolfe S, *Giraldez AJ; A novel miRNA processing pathway independent of Dicer requires Argonaute2 catalytic activity **Science**, 328, 1694-8 (2010)

公募研究 1 0

<研究代表者> 藤原俊伸 (公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所)

<研究課題名> 神経特異的 RNA 結合蛋白質と microRNA による翻訳制御機構の解明

<主な研究成果概要>

小分子 RNA マシナリーと RNA 結合タンパク質の協調的あるいは拮抗的な作用を解析し、以下の知見を得た。

- ① 翻訳開始機構および miRNA による翻訳抑制との相関関係について解析し、miRNA 存在下あるいは非存在下における翻訳開始複合体形成状態の解析を行い、miRNA 存在下においてのみ形成される複合体の観察に成功した。
- ② ゼブラフィッシュ胚中において poly(A)結合タンパク質 PABP 枯渇状態での polysome 形成状態をショ糖密度勾配遠心により解析を行った。また、ゼブラフィッシュ胚中では GW182/TNRC6 タンパク質と PABP とは結合しないことを明らかにした。
- ③ 独自の生化学系を用いてこれまでに報告がなかった線虫の U8 snoRNA を発見した (原著論文3)。

<原著論文>

1. Fujiwara Y, Kasashima K, Saito K, Fukuda M, Fukao A, Sasano Y, Inoue K, *Fujiwara T, Sakamoto H; Microtubule association of a neuronal RNA-binding protein HuD through its binding to the light chain of MAP1B. **Biochimie** 93, 817-822 (2011)
2. Singh CR, Watanabe R, Zhou D, Jennings MD, Fukao A, Lee B, Ikeda Y, Chiorini JA, Campbell SG, Ashe MP, Fujiwara T, Wek RC, Pavitt GD, *Asano K; Mechanisms of translational regulation by a human eIF5-mimic protein. **Nucleic Acids Res.** (印刷中)
3. Hokii Y, Sasano Y, Sato M, Sakamoto H, Sakata K, Shingai R, Taneda A, Oka S, Himeno H, Muto A, *Fujiwara T, *Ushida C; A small nucleolar RNA functions in rRNA processing in *C. elegans*. **Nucleic Acids Research** 8, 5909-5918 (2010)

公募研究 1 1

<研究代表者> 中山潤一 (独立行政法人理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター クロマチン動態研究チーム)

<研究課題名> 高次クロマチン構造を制御する非コード RNA 作用マシナリーの解析

<主な研究成果概要>

高次クロマチン構造形成における小分子非コード RNA 作用マシナリーの関与を解明するため、分裂酵母をモデル系として解析を行い、以下の知見を得た。

- ① 分裂酵母の RNA 作用マシナリーである RITS の構成要素 Chp1 に着目し、Chp1 のクロモドメインが RNA とメチル化ヒストン (H3K9me) の両方に結合出来ること、H3K9me の結合によって RNA 結合ドメインが変化すること、この RNA 結合能が RNA 作用マシナリーとしての機能に重要であることを明らかにした。
- ② 分裂酵母の RNAi 機能で働く RNA 作用マシナリーの一つ、RNA dependent RNA polymerase complex (RDRC) は、RITS との相互作用を介してクロマチンにリクルートされることが示唆されているが、その機構の詳細は不明であった。遺伝学的な解析から、新規因子 Ers1 が Hrr1 と Swi6 を仲介し、RDRC のリクルートを促進していることを明らかにした。

<原著論文>

1. Hiragami-Hamada K, Shinmyozu K, Hamada D, Tatsu Y, Uegaki S, Fujiwara S, *Nakayama J; N-terminal phosphorylation of HP1 α promotes its chromatin binding. **Mol. Cell. Biol.** 31, 1186-200. (2011)
2. Kitano E, Hayashi A, Kanai D, Shinmyozu K, *Nakayama J; Roles of fission yeast Grc3 protein in ribosomal RNA processing and heterochromatic gene silencing. **J. Biol. Chem.** 286, 15391-402. (2011)
3. Shirai A, Sadaie M, Shinmyozu K, *Nakayama J; Methylation of ribosomal protein L42 regulates ribosomal function and stress-adapted cell growth. **J. Biol. Chem.** 285, 22448-22460. (2010)
4. Hayakawa T, Zhang F, Hayakawa N, Ohtani Y, Shinmyozu K, *Nakayama J, *Andressen PR; MRG15 binds directly to PALB2 and stimulates homology-directed repair of chromosomal breaks. **J. Cell Sci.** 123, 1124-1230. (2010)

<総説>

1. Hayakawa T, *Nakayama J; Physiological roles of Class I HDAC complex and Histone demethylase. **J Biomed. Biotechnol.**, 2011, 129383. (2011)
2. 中山潤一; 高次クロマチン構造とノンコーディングRNA 細胞工学, 印刷中 (2011)
3. 中山潤一; 細胞のがん化・老化に関わるテロメアとは? 化学, 65, 55-58 (2010)
4. 西淵剛平、中山潤一; ヒト培養細胞を用いたタンパク質複合体精製のためのアフィニティタグの検討, 蛋白質科学会アーカイブ, 3, e060 (2010)

<新聞発表等>

神戸新聞 (1 面) 2010 年 5 月 26 日

公募研究 1 2

<研究代表者> 西増弘志 (東大・院理・生化)

<研究課題名> 真核細胞における RNA サイレンシングの構造基盤の解明

<主な研究成果概要>

高次生命現象における非コード RNA 作用マシナリーの役割と重要性を理解するため、生化学的解析と結晶構造解析を行い、以下の知見を得た。

- ① ショウジョウバエ Tudor タンパク質の 11 個の Tudor ドメインをそれぞれ大腸菌を用いて調製し、ビオチン化した sDMR-Aub, sDMR-Ago3 ペプチドを用いたプルダウンアッセイにより sDMR-Aub, sDMR-Ago3 に結合する Tudor ドメインを同定した。同定した Tudor ドメインを大量調製し、結晶化に成功した。

- ② piRNA 産生に関与する MAEL、および、ZUC タンパク質を大腸菌を用いて大量調製し、結晶化に成功した。

<原著論文>

1. Nishimasu H, Okudaira S, Hama K, Mihara E, Dohmae N, Inoue A, Ishitani R, Takagi J, Aoki J, *Nureki O; Crystal structure of autotaxin and insight into GPCR activation by lipid mediators, **Nat. Struct. Mol. Biol.**, 18, 205-212 (2011)

<総説>

1. 西増弘志、濡木理; 拡大・進展を続ける RNA 研究の最先端, **実験医学**, 207, 107-113 (2010)

<新聞発表等>

読売新聞 (宮城), 2011 年 1 月 17 日; 日刊工業新聞, 2011 年 2 月 11 日

公募研究 13

<研究代表者> 竹田秀 (慶應義塾大学医学部)

<研究課題名> マイクロ RNA による骨代謝調節の分子基盤

<主な研究成果概要>

骨代謝における miRNA の生理的意義の統合的な理解を目指し、以下の知見を得た。

- ① 骨芽細胞分化を調節する miRNA を多数同定し、その標的を明らかにするとともに、個体レベルでの当該 miRNA の機能を遺伝子改変マウスを用いて検証した。
- ② 上記の研究過程で、miR-208 が E26 を標的として骨芽細胞分化を調節していることを明らかにした (原著論文 2)

<原著論文>

1. Kimura A, Inose H, Yano F, Fujita K, Ikeda T, Sato S, Iwasaki M, Jinno T, Ae K, Fukumoto S, Takeuchi Y, Itoh H, Imamura T, Kawaguchi H, Chung UI, Martin JF, Iseki S, Shinomiya K, *Takeda S; Runx1 and Runx2 cooperate during sternal morphogenesis. **Development**, 137, 1159-67 (2010)
2. Itoh T, Takeda S, *Akao Y; MicroRNA-208 modulates BMP-2-stimulated mouse preosteoblast differentiation by directly targeting V-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1. **J. Biol. Chem.**, 285, 27745-27752 (2010)
3. Nishikawa K, Nakashima T, Takeda S, Isogai M, Hamada M, Kimura A, Kodama T, Yamaguchi A, Owen MJ, Takahashi S, *Takayanagi H; Maf promotes osteoblast differentiation in mice by mediating the age-related switch in mesenchymal cell differentiation. **J. Clin. Invest.**, 120, 3455-65 (2010)

<総説>

1. 木村文子、竹田秀; オステオカルシンと糖代謝 **内分泌・糖尿病・代謝内科**, 30, 195-199 (2010)
2. 藤田浩二、竹田秀; 骨代謝とニューロペプチド **Hormone Frontier Gynecol.**, 17, 51-56 (2010)
3. 竹田秀; 代謝性骨疾患の分子医学 **BIO Clinica**, 25, 36-40 (2010)
4. 竹田秀; 【生活習慣病と骨折危険性】 エネルギー代謝と骨代謝の連関 **腎と骨代謝**, 23, 65-71 (2010)
5. 竹田秀; 脳による骨の調節 **日本内科学会雑誌**, 99, 1928-1933 (2010)
6. 竹田秀; 骨と神経のクロストーク. **病理と臨床**, 28, 953-958 (2010)
7. 坂東和香、竹田秀; セロトニンと骨代謝 **腎と骨代謝**, 23, 141-144 (2010)
8. 竹田秀; セロトニンと骨代謝 **内分泌・糖尿病科**, 29, 459-462 (2009)
9. 岩崎牧、四宮謙一、竹田秀; 後縦靱帯骨化症の骨化における Runx の役割 **整形・災害外科**, 52, 1578-1579 (2009)

研究組織と各研究項目の連携状況

<研究組織>

研究項目 A01 計画研究

計画研究 1

研究課題名：小分子 RNA 作用マシナリーの中核因子 Argonaute の解析
研究代表者 泊 幸秀 東京大学分子細胞生物学研究所・准教授
研究分担者 塩見 美喜子 慶應義塾大学医学部・准教授

計画研究 2

研究課題名：高分子非コード RNA 作用マシナリー構成要素の探索と解析
研究代表者 鈴木 健夫 東京大学大学院工学系研究科・助教

計画研究 3

研究課題名：高分子非コード RNA 作用マシナリー構成要素の探索と解析
研究代表者 程 久美子 東京大学大学院理学系研究科・准教授
研究分担者 小田 健昭 東京大学分子細胞生物学研究所・助教
研究分担者 山下 暁朗 横浜市立大学医学部・講師

計画研究 4

研究課題名：Xist RNA 作用マシナリーの調節機構
研究代表者 佐渡 敬 九州大学生体防御医学研究所・准教授

計画研究 5

研究課題名：高次生命現象における時空間的な小分子 RNA の生理機能解析
研究代表者 中澤 敬信 東京大学医科学研究所・助教
研究分担者 宮川 さとみ 大阪大学生命機能研究科・招聘教員

計画研究 6

研究課題名：遺伝学的アプローチによる高分子非コード RNA マシナリーの生理機能解析
研究代表者 影山 裕二 自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター・特任助教
研究分担者 中川 真一 理化学研究所中川 RNA 生物学研究室・准主任研究員

計画研究 7

研究課題名：非コード RNA 作用マシナリーの医薬応用
研究代表者 和田 猛 東京大学大学院新領域創成科学研究科・准教授
研究分担者 竹下 文隆 国立がんセンターがん転移研究室・研究員

研究項目 A01 公募研究

公募研究 1

研究課題名：宿主感染に関与する寄生線虫の非コード RNA マシナリーの機能解明
研究代表者 Goto Derek 北海道大学創生研究機構・特任助教

公募研究 2

研究課題名：piRNA の機能解析に基づくカイコの性決定機構の解明
研究代表者 勝間 進 東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授

公募研究 3

研究課題名：miRNA を介した雄性化機構の分子基盤の解明
研究代表者 松本 高広 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・准教授

公募研究 4

研究課題名：哺乳動物細胞の核内非コード RNA 分解経路に関する研究
研究代表者 秋光 信佳 東京大学アイソトープ総合センター・准教授

公募研究 5

研究課題名：X 染色体の不活化と機能性非コード RNA の解析

研究代表者 小林 慎 東京医科歯科大学難治疾患研究所・特任講師

公募研究 6

研究課題名：核マトリックスを介した長鎖 ncRNA, UBE3A-ATS のクロマチン制御機構

研究代表者 堀家 慎一 金沢大学フロンティアサイエンス機構・助教

公募研究 7

研究課題名：癌化・老化を左右する新規非コード RNA の機能解析

研究代表者 神武 洋二郎 浜松医科大学医学部・助教

公募研究 8

研究課題名：線虫の生殖細胞における新規小分子 RNA の作用マシナリーの解析

研究代表者 田原 浩昭 筑波大学人間総合科学研究科・研究員

公募研究 9

研究課題名：TNRC6 タンパク質の機能解析による micro RNA システムの動作原理の解明

研究代表者 三嶋 雄一郎 神戸大学理学研究科・研究員

公募研究 10

研究課題名：神経特異的 RNA 結合蛋白質と micro RNA による翻訳制御機構の解明

研究代表者 藤原 俊伸 微生物化学研究所・主任研究員

公募研究 11

研究課題名：高次クロマチン構造形成を制御する非コード RNA 作用マシナリーの解析

研究代表者 中山 潤一 理化学研究所発生再生科学総合研究センター・チームリーダー

公募研究 12

研究課題名：真核細胞における RNA サイレンシングの構造基盤の解明（平成 22 年度まで）

研究代表者 西増 弘志 東京大学大学院理学研究科・助教

公募研究 13

研究課題名：マイクロ RNA による骨代謝調節の分子基盤（平成 22 年度まで）

研究代表者 竹田 秀 慶應義塾大学医学部・准教授

評価者

総括班連携研究者	阿形 清和	京都大学大学院理学研究科・教授
総括班連携研究者	岡野 栄之	慶應義塾大学医学部・教授
総括班連携研究者	仲野 徹	大阪大学大学院医学系研究科・教授
総括班連携研究者	松藤 千弥	東京慈恵医科大学医学部・教授
総括班連携研究者	永田 恭介	筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授

<各研究項目の連携状況>

本領域では研究項目を設定せず、7 名の計画研究代表者と 13 名の公募研究代表者（うち 2 名は 22 年度のみ参加）が有機的に連携することを基本戦略とし、これまでに 2 回の領域会議を開催し、研究者間の相互理解とともに密な議論を行なった。特に、第 2 回の会議では、実際に研究を行なっている大学院生やポスドクが自分自身の研究成果を発表する機会を設け、技術的な問題点の克服とともに、解析手法やデータの共有に努めてきた。その結果、以下にまとめたように、17 件に上る研究連携が行なわれている。特に、RNP 複合体の生化学的解析技術や、翻訳系を中心とした遺伝子発現解析技術供与などによる連携が顕著である。これらの手法は日本が伝統的に強みを持つ技術でもあり、本領域を牽引する原動力ともなっている。

また、本領域で実施されている高分子非コード RNA の分解制御機構の解析から、新たに研究連携が発展している点にも言及しておきたい。計画研究と公募研究、あるいは公募研究間の連携が盛んに行なわれているのも特徴である。すなわち、異なるバックグラウンドを持つ研究者が協力・連携し合い研究を遂行する研究体制が整いつつある。すでに、計画研究 1 と公募研究 2 からは共著論文が発表されており、今後も多くの共同研究の進展が期待される。

研究計画後半では、これまで行なってきた研究連携体制を維持するとともに、新たな連携の核になるような非コード RNA の構造生物学的手法の技術開発や、次世代シーケンサーより得られる膨大なデータを解析する技術等の共有により、領域内における連携体制をさらに強固にする予定である。

研究課題 番号		情報／技術等の提供元																						
		計画研究							公募研究															
		1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
情報／技術等の提供先	計画研究	1																						
		2																						
		3																						
		4																						
		5																						
		6																						
		7																						
	公募研究	1																						
		2																						
		3																						
		4																						
		5																						
		6																						

- 計画研究 1 ↔ 計画研究 2 : 小分子 RNA の質量分子解析に関する技術供与
 計画研究 1 ↔ 計画研究 3 : RNA-タンパク質複合体精製に関する技術提携
 計画研究 1 ↔ 計画研究 7 : 光学活性ホスホロチオエート RNA を用いた AGO タンパク質の機能解析に関する技術供与
 計画研究 1 ↔ 公募研究 2 : カイコ生殖細胞における小分子 RNA の機能解析に関する共同研究
 計画研究 1 ↔ 公募研究 9 : 小分子 RNA による翻訳制御機構の解析に関する技術提携
 計画研究 1 ↔ 公募研究 10 : 密度勾配遠心を利用した翻訳開始複合体解析に関する共同研究
 計画研究 1 ↔ 公募研究 12 : AGO2, DCR1, MAEL, ZUC の結晶構造解析に関する技術供与
 計画研究 3 ↔ 計画研究 6 : RNA-タンパク質複合体精製に関する技術提携
 計画研究 3 ↔ 公募研究 12 : RNA 結合タンパク質の結晶構造解析に関する技術提携
 計画研究 3 ↔ 公募研究 4 : 核内 RNA 分解系の情報科学的解析に関する技術提携
 計画研究 3 ↔ 計画研究 5 : RNA 結合タンパク質の網羅的スクリーニングに関するデータ供与
 計画研究 3 ↔ 公募研究 12 : D8 の結晶構造解析に関する技術供与
 計画研究 4 ↔ 計画研究 6 : Xist RNA の核内局在機構の解析に関する技術提携
 公募研究 1 ↔ 公募研究 11 : 線虫小分子 RNA の生化学的解析に関する技術提携
 公募研究 4 ↔ 公募研究 6 : Imprinting に関わる非コード RNA の分解制御に関する技術提携
 公募研究 4 ↔ 公募研究 7 : 核内非コード RNA ANRIL の分解制御に関する技術提携
 公募研究 9 ↔ 公募研究 10 : 小分子 RNA による翻訳制御機構の解析に関する技術提携

研究費の使用状況

これまで、各研究代表者は、適正な研究費の支出を行ってきた。平成 21 年度は、計画研究代表者が研究遂行に不可欠な設備の購入を行った。本領域の構成員に若手研究者が多く含まれていることを反映して、サーマルサイクラーや CO₂ インキュベータ、吸光光度計など、汎用性の高い、実験の根幹を成す機器類が多く購入されているのが特徴であり、機器の選定・購入は慎重かつ適正に行われている。機器購入以外には、遺伝子組換え実験試薬を中心に、抗体作製、マイクロアレイ試薬などの試薬類や、プラスチック製品およびガラス製品などの消耗品に研究費が使われている。また、研究費は、研究の推進に欠かせない研究補助員やポストクの雇用にも使用されており、人数・雇用期間・業務内容ともに適正に決められている。

本研究領域では、研究者間の交流と若手研究の育成を重視している。これは、非コード RNA 研究そのものが新しい研究分野であり、構成員の互いの情報交換と連携が必須であるとともに、次世代の非コード RNA 研究を担う若手研究者を育成しなければこの分野の発展はありえないという強い信念に基づくものである。本研究領域では、これまで 2 回の領域会議を開催し、研究の進捗状況の報告とともに、これからの非コード RNA 研究のあり方について、真剣な議論を行ってきた。また、世界的に著名な海外研究者を数多く招聘した国際シンポジウムを 2 回開催し、海外の研究者の動向を探るとともに、密な情報交換を行った。海外招待講演者からは、我が国における本分野のアクティビティの高さを賞賛する声が多く聞かれた。これらの会議の出席に際し、会議費および旅費の一部を総括班経費から支出した。また、学生やポストクによる海外学会への参加に際し、その旅費の一部を総括班から支出した。これらの支援活動は、若手研究者の育成のみならず、海外の研究グループとの共同研究という形で研究成果に結びつきつつある。

なお、領域の運営に携わる事務補佐員を一名雇用し、その雇用費および事務用品にかかる費用を総括班から支出している。

以上のように、本研究領域では、研究費は適正かつ有効に使用されている。

今後の研究領域の推進方策

本研究領域の、研究計画後半期に向けた推進方策は以下の通りである。

- ①非コード RNA 作用マシナリーの基本的な性質の解明を目指した一層の研究の推進
- ②領域内の研究者間の連携の強化と若手研究者の支援
- ③国内外の周辺分野研究者との相互作用の推進

①に関しては、個々の研究者の努力に帰する部分が大きいが、過不足ない予算配分により、効果的な研究の推進を目指す。いくつかの研究課題においては、研究成果発表に至らないまでも、特筆すべき発見がなされているものも含まれている。これらの研究を効果的に推進するためには、個々の研究者の努力のみならず、領域として支援すべき点は支援することが肝要であろう。飛躍的な情報をもたらすと期待される次世代シーケンサーを用いた解析など、特殊な設備や技術的なノウハウを要求されるものに関しては、現有施設の共同利用の促進や各種研修会への参加支援など、積極的な支援を行いたい。

②に関しては、領域会議の開催とともに、国際研究集会の開催やメーリングリストの活用等により一層の連携強化を目指す。また、若手研究者自身の企画による研究集会の開催や若手研究者の海外派遣などにより、若手研究者の育成を支援する。若手研究者の育成は本領域の目的の一つであり、これまでも RNA フロンティアミーティングへの支援活動や、海外で行われる学会参加に対する支援などを行ってきたが、支援の方向性が構成班員に必ずしも浸透しているとは言い難く、現在までのところ、支援希望は限られた研究者にとどまっている。計画後半においては、メーリングリストやホームページを通じて支援の周知に務めるなど、より積極的な支援に取り組み、研究成果を伴う効果的なものにしたい。

③に関しては、これまでに主催・共催した 2 回の国際シンポジウムが大きな成功を収めたことを受け、24 年度および 25 年度にも国際シンポジウムを企画中である。平成 24 年度には、新学術領域研究「RNA 制御学」領域および理化学研究所発生・再生科学総合研究センターと共催で、非コード RNA にとどまらず、RNA を中心とした基礎生物学的分野で活躍する研究者を招聘し、本領域の成果を国内外に発信するとともに、周辺分野を含めた国内外の他の研究者との新たな連携を推進する。平成 25 年度には、本領域研究が主催する、非コード RNA をテーマとする国際シンポジウムを開催する予定であり、現在準備中である。これらの国際シンポジウムは、海外の研究者との情報交換を強化するとともに、共同研究の契機となることが期待される。非コード RNA 作用マシナリーについての研究は、世界的に見ても緒についたばかりであり、上記国際シンポジウムの意義は大きいと思われる。

総括班評価者による評価の状況

総括班評価者には機会のあるごとに領域の運営に関する貴重な助言をいただいている。また、領域会議では個々の研究について批判的かつ建設的な意見をいただき、活発な議論につながっている。平成 23 年 6 月には、本領域のこれまでの業績などの資料を送付の上、領域についての中間総括をお願いした。5 名のいずれの評価者からも、「総合的に見て非常に順調に研究が進展している」との評価をいただいている。以下、個別のコメントをまとめる。

全体の展開：

世界的に競争の激しい非コード RNA 研究分野において、非コード RNA 作用マシナリーという新たな視点を持って研究を推進していることの意義は大きい。また、若いメンバーで構成されているにもかかわらず、比較的小規模な予算の中で、著しい研究成果を生み出すと同時に、優れたマネジメントを行っていることについて、高い評価を与えてよい。新学術領域を編成することで本分野の我が国での研究強化に成功しているといつてよかろう。研究者の交替などについても、理由がはっきりしており全く問題ない。

研究の進展と成果：

短期間に目覚ましい成果を挙げている。中でも、小分子 RNA の分子基盤に関する報告、Xist の機能および局在に関する報告は特筆すべきものである。また、非コード RNA であると考えられていた転写産物が小さなペプチドをコードして遺伝子発現制御に関与しているなど、予想できなかった大きな研究成果もあがっている。班会議などでの発表から、今後、すぐれた論文として発表されるであろうと考えられる研究も数多くあり、これからも順調に成果があげられていくものと期待できる。

研究の連携：

研究領域内の連携は密であり、領域会議なども実質的な研究交流が進むように良く準備されている。領域発足後に開始された共同研究の論文化がさらに進むには、いましばらくの期間が必要であるが、各研究の独自性を損なうことなく、特に公募研究を交えた連携を領域全体として意識的に推進することにより、更に有機的な領域となることが期待される。

成果の発信・広報：

新聞発表、ホームページ、ブログ、和文総説誌での特集、中高生や一般向けの講演会など、広く国民への広報にも努力しており、成果の発信は十分である。構成員に若手研究者が多いことから、研究の広報に時間を費やすよりも、研究そのものに専心することを第一義とすべきであろう。シンポジウムに関しては、領域外からの参画を促すことも重要である。

後半期及びその後の方向性：

基本的に領域代表者の大きな目標設定のもと、個々の研究者の研究を進展させて全く問題はない。公募研究を活用し、高分子非コード RNA の多様な生理機能解析や、真の医薬応用を見据えた積極的な共同研究など、さらなる進展を期待したい。また、小さなペプチドの例のように、思わぬ発見や新たな領域の開拓も十分に期待される。今後、非コード RNA 研究は相当な発展を遂げられると思われるが、本領域の研究期間終了時には、構成員の何人かは当該研究分野全体を牽引する国際的なリーダーの役目を果たさなければならない。このような展望のもと、本領域から産み出される次の方向性を考えて欲しい。