

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21115002

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

研究課題名(英文)Argonaute: the core of small RNA effector complex

研究代表者

泊 幸秀(Tomari, Yukihide)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：90447368

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 125,000,000円、(間接経費) 37,500,000円

研究成果の概要(和文)：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。AGOサブファミリータンパク質については、これまで機能未知であった「Nドメイン」が小分子RNA二本鎖の一本鎖化に極めて重要な役割を果たしていることを見出すなど、作用マシナリーの形成と機能に関する多数の重要な知見を得た。またPIWIサブファミリーについては、piRNAの生合成過程の一部を再現出来るin vitroの実験系の構築に成功しその素過程を初めて生化学的に明らかにするなど、顕著な成果を上げた。

研究成果の概要(英文)：At the core of the small RNA effector complex lie Argonaute family proteins, which can be divided into ubiquitous AGO subfamily and gonad-specific PIWI subfamily. We have made a series of important discoveries about the effector complex assembly and target silencing functions of AGO-clade small RNAs, including our finding that the N domain of AGO plays a critical role in separating the two small RNA strands within AGO to mature the effector complex. We have also successfully reconstituted the core part of the piRNA biogenesis pathway in vitro, paving a new path to biochemical understanding of PIWI-clade small RNAs.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生命科学・分子生物学

キーワード：遺伝子 発現制御 核酸 蛋白質

1. 研究開始当初の背景

すべての小分子 RNA は、共通のエフェクター複合体である RISC (RNA-induced silencing complex) を介して、ゲノム情報の発現制御に重要な役割を果たしている。RISC の核心をなすタンパク質は、「Argonaute ファミリータンパク質」と呼ばれ、酵母からヒトに至るまで高度に保存されている。Argonaute は小分子 RNA と直接結合し、標的 RNA の切断を触媒することが知られているが、二本鎖として生成される小分子 RNA がいかんして Argonaute に取り込まれ RISC を形成し、標的を認識し、リサイクルするかという各素過程については、不明な点が多く残されている。また、Argonaute ファミリータンパク質は、恒常的に発現する AGO サブファミリーと生殖細胞特異的に発現する PIWI サブファミリーとに分類されるが、PIWI サブファミリーの RISC 形成経路は、研究の進んでいる AGO サブファミリーのものとは全く異なることが示唆されており、その実態についてはほとんど何も分かっていないのが現状である。

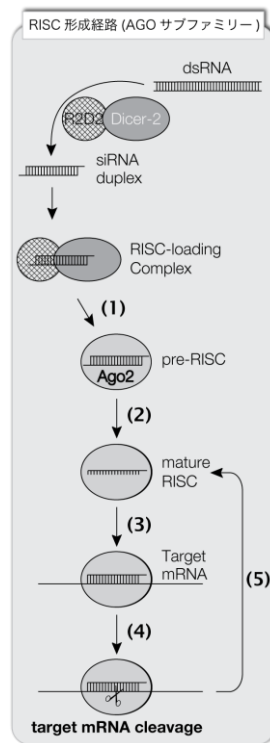
2. 研究の目的

本研究は、AGO サブファミリー、PIWI サブファミリーの両方を含む、Argonaute ファミリー全体を網羅し、小分子非コード RNA 作用マシナリーの分子基盤を明らかにすることを目標とする。比較的 understanding の進んでいる AGO サブファミリーについては、その多機能的な役割を切り分けて評価できる解析系を確立し、さらに AGO 自身に系統の変異を導入することによって、それぞれの素過程に必要な AGO サブファミリーの機能ドメインをアミノ酸レベルで解析する。ショウジョウバエおよびヒトにおいて複数個存在する AGO サブファミリーのうち、Ago2 だけが「標的の切断」と「標的の翻訳制御」の両方を行う能力を持つが、特にショウジョウバエの Ago2 に関しては過剰発現系や翻訳抑制を含む各素過程の評価系をすでに確立していることから、恒常的に機能する小分子 RNA 作用マシナリーの非常に良いモデルとなりうる。また、理解の遅れている PIWI サブファミリーについては、生殖細胞株が樹立されているカイコを用いることによって、結合する piRNA の生合成過程や、PIWI サブファミリーに結合する未知因子を解析することにより、生殖系特異的な小分子 RNA 作用マシナリーの分子メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

AGO サブファミリーが機能する過程は、大まかに (1) Argonaute への小分子 RNA のローディング (2) 二本鎖小分子 RNA の一本鎖化 (3) ターゲットの認識 (4) ターゲットの切断または翻訳抑制 (5) リサイクル という各段階に分けられる。

我々は、アガロースネィティブゲルを用いた複合体の同定、アクリルアミド・ネィティ



ブゲルを用いた小分子 RNA の二本鎖・一本鎖の判別、標的認識状態の検出、標的切断反応、in vitro での翻訳抑制の再現、リサイクリングの評価等、これまでに想定されているほとんどの素過程を定量的に評価できる実験系を確立している。この系をもちいて、和田らの計画研究と連携し、光学活性ホスホロチオエート RNA が、各素過程に与える影響を解析し、動作原理を明らかにするとともに、医薬応用に向けた基礎的知見を提供する。

またこれまでに、タグ付きショウジョウバエ AGO サブファミリータンパク質を培養細胞において過剰発現させ精製した後、当該 Argonaute 欠失系統ハエあるいは当該 Argonaute をノックダウンした S2 細胞由来の抽出液で補完することで、上記の過程を生化学的に再構築することが可能であることを見いだしている。この独自の実験系を用いてショウジョウバエやヒトの Ago2 をモデルとして、様々な系統の変異を導入したライブラリーを作成し、AGO サブファミリーの機能ドメイン解析を行う。特に、まだ機能未知の「Nドメイン」の役割を明らかにする。

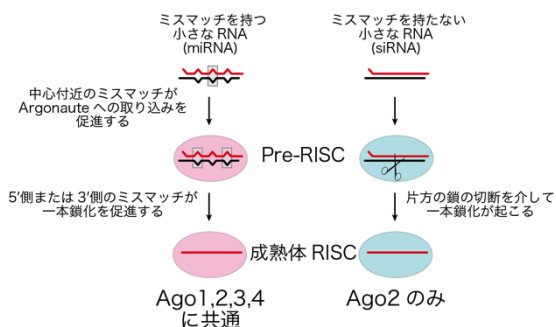
また前述の通り、PIWI サブファミリーが機能する過程は、AGO サブファミリーと大きく異なることが示唆されているものの、その実体は全く分かっておらず、結合する piRNA の生合成経路、および RISC 形成経路の解明が喫緊の課題である。したがって、生殖細胞由来の培養細胞株が樹立されているカイコをモデル系とし、PIWI サブファミリーのメンバーである Siwi と BmAgo3 に対する抗体を用いて、両者に結合する piRNA の特徴を解析する。さらに、免疫沈降と質量分析を組み合わせることで、それぞれの PIWI サブファミリーと相互作用するタンパク質因子の同定を行う。

4. 研究成果

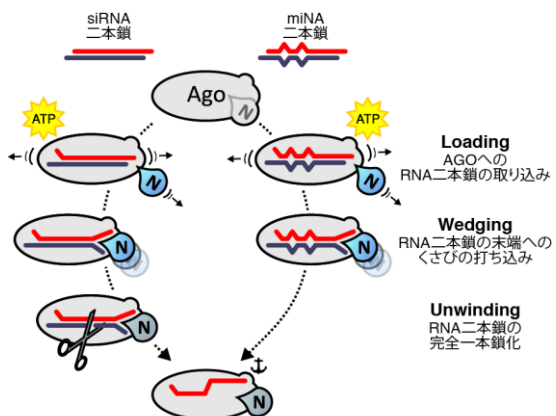
AGO サブファミリータンパク質については、ハエ、ヒト、およびシロイヌナズナという幅広い種の RISC 形成過程に、少なくとも「RISC 前駆体の形成 = Argonaute への小分子 RNA 二本鎖の取り込み」と、「RISC の成熟化 = 小分子 RNA 二本鎖の一本鎖化」の 2 つの段階があることを見い出し、さらにそれぞれ

の過程に必要な小分子 RNA の構造的特徴を明らかにした(*Nature Struct Mol Biol* 2009; *Nature Struct Mol Biol* 2010; *EMBO Rep* 2011; *EMBO Rep* 2013)。これによって、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(特開 2011-4708 PCT/JP2010/061036)。

ヒトにおける RISC 形成のルールの発見



さらに、全く機能未知であった AGO サブファミリーの「N ドメイン」について、種間の保存性に着目した大規模な系統的変異解析を行なった結果、ヒトの Argonaute2 においては、その N ドメインが、小分子 RNA 二本鎖の一本鎖化の途中段階に機能していることが強く示唆された。これを核として様々な検証を行い、RISC 形成に Wedging、すなわち RNA 二本鎖の末端への「くさびの打ち込み」という新しい素過程が存在するモデルを提唱し、当初の目的である AGO サブファミリーの機能ドメインの解明を達成した(*Nat Struct Mol Biol*. 2012)。



また、siRNA に光学活性ホスホロチオエートを系統的に導入し、その RISC 形成過程における影響を上記の系を用いて *in vitro* で調べたところ、特定の位置に特定の光学活性ホスホロチオエートを導入することによって、Argonaute への小分子二本鎖 RNA の取り込み、および、小分子二本鎖 RNA の一本鎖化のそれぞれの素過程に特異的な影響を与えることが明らかとなり、医薬応用を目指した光学活性ホスホロチオエートを含む siRNA の合

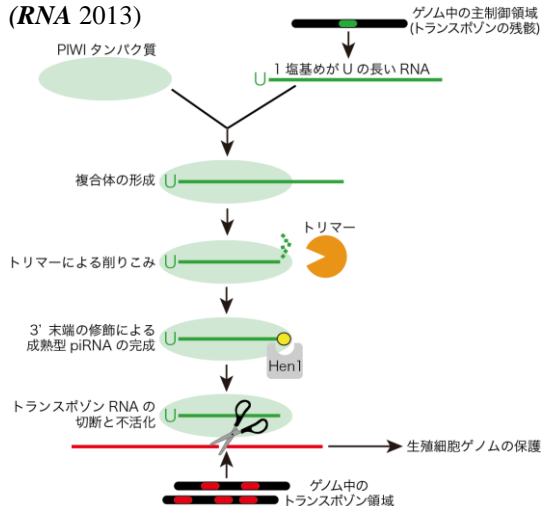
理的設計に道を開いた。

また、AGO サブファミリーによる標的 mRNA のサイレンシングのメカニズムに関しても詳細な研究を行った。特に、miRNA が切断を介さずに標的 mRNA からのタンパク質合成を抑制する具体的なメカニズムに関しては、これまで相矛盾するモデルが乱立し混乱を極めてきた。miRNA は標的 mRNA の「翻訳の抑制」と「poly(A)鎖の分解」を誘導すると言われているが、やっかいなことに、poly(A)鎖には本来翻訳を促進する働きがあるため、「poly(A)鎖の分解」を受けた mRNA からの翻訳はおのずと抑制される。逆に、「翻訳の抑制」を受けた mRNA はリボソームによる保護を受けなくなるために不安定化し、poly(A)鎖の分解が促進される。このように、miRNA が引き起こす 2 つの異なる抑制経路は、お互いに密接に影響を及ぼし合うため、典型的な「ニワトリが先か卵が先か?」というジレンマが生じてしまう。従来の研究では、これらの総和としての最終的な効果しか解析されて来なかったため、因果関係が不明であったことが混乱の大きな原因であると考えられる。

そこで我々は、microRNA の上記二つの抑制経路を忠実に再現できる独自の *in vitro* 系を確立し、それらの素過程を世界に先駆けて生化学的に切り分けることによって、長年にわたり当該分野の足かせとなっていた問題を打破することに成功し、miRNA による抑制が翻訳開始の極めて早い段階(リボソーム小サブユニットの mRNA への誘導以前)に起こることを明らかにした(*Mol Cell* 2009, *EMBO J* 2011, *Mol Cell* 2012)。また、植物の microRNA を含む AGO サブファミリーが、翻訳伸長途中のリボソームの進行を物理的に阻害することによって翻訳抑制を引き起こすことを明らかにした(*Mol Cell* 2013)。さらには、ショウジョウバエにおいて microRNA 前駆体から microRNA 二本鎖を切り出す Dicer-1 と呼ばれる酵素の基質認識機構を明らかにした(*Nat Struct Mol Biol*. 2011)。

理解の遅れていた PIWI サブファミリータンパク質については、公募班員であり鱗翅目昆虫を専門とする勝間と密接な共同研究を行い、カイコ卵巣由来の培養細胞である BmN4 細胞を用いて、piRNA 生合成経路の一端を再現できる *in vitro* 系の構築に初めて成功した。その結果、piRNA の前駆体となる長い一本鎖 RNA は、まず長いまま PIWI タンパク質に取り込まれ、「トリマー」と名付けた Mg^{2+} 依存的な 3'→5'エキソヌクレアーゼによって 3'末端が削りこまれ、さらにその削り込み反応と共役して、Hen1 メチル基転移酵素が 3'末端を 2'-O-メチル化する、という一連の流れが明らかとなった(*Mol Cell* 2011)。この知見は、今後の piRNA 研究の生化学的な基盤として極めて重要である。また、一本鎖 piRNA 前駆体が PIWI サブファミリーに取り込まれ

る際、Hsp90 シャペロンマシナリーが重要な役割を果たしていることを明らかにした (RNA 2013)

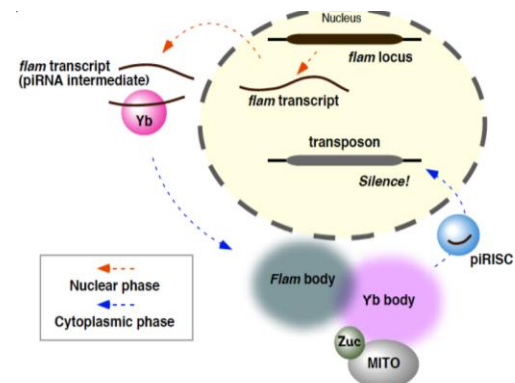


さらに、BmN4 細胞を用い、カイコの 2 種 PIWI サブファミリータンパク質である Siwi と BmAgo3 のそれぞれについて抗体を作成し、特異的に相互作用する因子の探索を精力的に進め、Tuder ドメインタンパク質を始めとする新規因子を多数同定した。これらのタンパク質間の相互作用には、PIWI がもつ対称型ジメチルアルギニン修飾が必須であり、そのような相互作用依存的に、核のまわりのニューアーヂュ様の細胞質構造体に局在することが明らかとなった。また、SpnE と Qin に特異的に結合する因子および RNA の解析をすすめたところ、Maelstrom がそれらと共に働く因子である事が明らかになった。さらに、piRNA 増幅機構因子の一つである Vasa について生化学的な解析を行うため、BmVasa 抗体を作成し、その解析をすすめたところ、BmVasa は、Siwi によって切断された RNA の RISC からのリリースに関わる可能性を示唆する結果が得られた。

また、カイコ Vasa (BmVasa) 抗体を作成し BmN4 抽出液から免疫沈降をおこなったところ、BmVasa は Siwi と特異的に結合することが判明した。In vitro での標的切断アッセイをおこなったところ、Siwi によって切断された標的 RNA は piRISC から解離せず、piRISC に結合した状態にあることが判った。これに BmVasa リコンビナントタンパク質を加えたところ、RNA の解離活性がみられた。BmVasa 変異体にはその活性は見出されなかった。このことから、BmVasa の piRNA 増幅機構への機能的寄与が明らかになった。

さらに、piRNA の一次生成機構に関しては、ショウジョウバエ細胞株 OSC を用いて行った。我々はこれまでの解析から細胞質核膜周辺に局在する構造体を piRNA 一次生成機構の場として同定し、Yb body と名付けた。piRNA 前駆体 RNA の挙動を調べるため RNA-FISH をおこなったところ、Yb body の近傍に集積することが明らかになった。我々

はこれを Flam body と名付けた。Yb body の中核因子である Yb をノックダウンした条件下では、Yb body のみならず Flam body も消滅する。レスキュー実験を行なったところ、野生型 Yb では Yb body も Flam body も復活するが、RNA に結合しない変異型 Yb では両者とも形成されないことが判明した。つまり、Yb タンパク質が piRNA 前駆体に結合することが、piRNA 前駆体の Flam body への集積および piRNA 生合成因子の Yb body への集積に必須であるといえる。Yb は piRNA 生合成機構、特に細胞質内の反応における中核因子であると結論づけた (Cell Reports in press)。



また、非コード RNA 研究の現状や問題点をまとめ、将来への展望を提唱する英文総説を執筆し、世界に向けて情報発信を行った (EMBO Rep. 2014; Genes Dev. 2014; Nat Struct Mol Biol. 2012; Trends Biochem Sci. 2010)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 23 件) すべて査読有

1. Yb integrates piRNA intermediates and processing factors into perinuclear bodies to enhance piRISC assembly. Murota Y, Ishizu H, Nakagawa S, Iwasaki YW, Shibata S, Kamatani, MK, Saito K, Okano H, Siomi H and Siomi MC*. *Cell Rep.* 2014 in press
2. Molecular Insights into microRNA-Mediated Translational Repression in Plants. Iwakawa HO, *Tomari Y. *Mol Cell.* 2013 Nov 21; 52(4):591-601.
3. Poly(A)-Specific Ribonuclease Mediates 3'-End Trimming of Argonaute2-Cleaved Precursor MicroRNAs. Yoda M, Cifuentes D, Izumi N, Sakaguchi Y, Suzuki T, *Giraldez AJ, *Tomari Y. *Cell Rep.* 2013 Nov 14; 5(3):715-26.
4. *Arabidopsis* ARGONAUTE7 selects miR390 through multiple checkpoints during RISC assembly. Endo Y, *Iwakawa HO, *Tomari Y. *EMBO Rep.* 2013 Jul; 14(7):652-8.
5. Hsp90 facilitates accurate loading of precursor piRNAs into PIWI proteins. Izumi N, Kawaoka S (equal contribution), Yasuhara S, Suzuki Y, Sugano S, *Katsuma S, *Tomari Y. *RNA.* 2013 Jul; 19(7):896-901.
6. Piwi-interacting RNAs: biological functions and biogenesis, Sato K, Siomi MC. *Essays Biochem* 2013. 54: 39-52

7. The comprehensive epigenome map of piRNA clusters.*Kawaoka S, Hara K, Shoji K, Kobayashi M, Shimada T, Sugano S, Tomari Y, Suzuki Y, *Katsuma S. *Nucleic Acids Res*. 2013 Feb 1;41(3):1581-90.
 8. microRNAs mediate gene silencing via multiple different pathways in *Drosophila*. Fukaya T, *Tomari Y. *Mol Cell*. 2012 Dec 28;48(6):825-36.
 9. Purification of dFMR1-Containing Complexes Using Tandem Affinity Purification, Miyoshi K, Ogino A, Siomi MC, Siomi H. *Trinucleotide Repeat Protocols (Methods in Molecular Biology)*. 2013. 1010: 111-121
 10. The N domain of Argonaute drives duplex unwinding during RISC assembly. Kwak PB, *Tomari Y. *Nat Struct Mol Biol*. 2012 Jan 10;19(2):145-51.
 11. PABP is not essential for microRNA-mediated translational repression and deadenylation in vitro.Fukaya T, *Tomari Y. *EMBO J*. 2011 Nov 25;30(24):4998-5009
 12. The silkworm W chromosome is a source of female-enriched piRNAs.Kawaoka S, Kadota K, Arai Y, Suzuki Y, Fujii T, Abe H, Yasukochi Y, Mita K, Sugano S, Shimizu K, Tomari Y, Shimada T, *Katsuma S. *RNA*. 2011 Dec;17(12):2144-51.
 13. Recognition of the pre-miRNA structure by *Drosophila* Dicer-1.Tsutsumi A, Kawamata T, Izumi N, Seitz H, *Tomari Y. *Nat Struct Mol Biol*. 2011 Sep 18;18(10):1153-8.
 14. 3' end formation of PIWI-interacting RNAs in vitro.Kawaoka S, Izumi N, *Katsuma S, *Tomari Y. *Mol Cell*. 2011 Sep 16;43(6):1015-22.
 15. Zygotic amplification of secondary piRNAs during silkworm embryogenesis.Kawaoka S, Arai Y, Kadota K, Suzuki Y, Hara K, Sugano S, Shimizu K, Tomari Y, Shimada T, *Katsuma S. *RNA*. 2011 Jul;17(7):1401-7.
 16. Diazirine-containing RNA photocrosslinking probes for the study of siRNA-protein interactions.Kuboe S, Yoda M (equal contribution), Ogata A, Kitade Y, *Tomari Y, *Ueno Y. *Chem Commun*. 2010 Oct 21;46(39): 7367-9
 17. The microRNA pathway and cancer. Kwak PB, Iwasaki S (equal contribution), *Tomari Y. *Cancer Sci*. 2010 Nov;101(11):2309-15
 18. Making RISC. Kawamata T, *Tomari Y. *Trends Biochem Sci*. 2010 Jul;35(7):368-76. Review.
 19. ATP-dependent human RISC assembly pathways. Yoda M, Kawamata T, Paroo Z, Ye X, Iwasaki S, Liu Q, *Tomari Y. *Nat Struct Mol Biol*. 2010 Jan;17(1):17-23.
 20. Structural requirement of miRNAs for RISC-loading and slicer-independent unwinding. Kawamata T, Seitz H, *Tomari Y. *Nat Struct Mol Biol*. 2009 Sep;16(9):953-60.
 21. Argonaute-mediated translational repression (and activation). Iwasaki S, *Tomari Y. *Fly*. 2009 Jul 14;3(3). Review
 22. The *Bombyx* ovary-derived cell line endogenously expresses PIWI/PIWI-interacting RNA complexes.Kawaoka S, Hayashi N, Suzuki Y, Abe H, Sugano S, Tomari Y, Shimada T, Katsuma S. *RNA*. 2009 Jul;15(7):1258-64.
 23. *Drosophila* Argonaute1 and Argonaute2 employ distinct mechanisms for translational repression. Iwasaki S, Kawamata T, *Tomari Y. *Mol Cell*. 2009 Apr 10;34(1):58-67.
- [学会発表] (計 42 件) (内招待講演 18 件)
- Tomari Y. Assembly and function of RISC, IMBA, 8th Microsymposium on small RNAs (招待講演),2013.5.27-29, Vienna , AUSTRIA
- Tomari Y. Biochemistry of small RNAs pathway in insects, EMBL Grenoble Seminar (招待講演) 2013.5.30, Grenoble,FRANCE
- 泊 幸秀. RNA サイレンシング複合体はどのように作られるのか? 理研セミナー(招待講演) 2013.8.29, 理化学研究所,和光
- 泊幸秀. 小さな RNA がはたらくしくみ, 生化学会若い研究者の会「第 53 回生命科学夏の学校」(招待講演)2013.8.30-31,伊豆熱川,静岡県賀茂郡
- Tomari Y. Defining fundamental steps in the assembly of *Drosophila* RNAi enzyme complex, RiboClub 14th Annual Meeting, 2013.9.23-25, Quebec, CANADA
- Tomari Y. Mechanisms of RNA silencing in animals and plants, McGill University Biochemistry Department Seminar (招待講演), 2013.9.26, Montreal, CANADA
- 泊 幸秀.小さな RNA が働くしくみ, 日本農芸化学会中央支部第 169 回例会 若手シンポジウム (招待講演), 2013.11.9, 岐阜大学,岐阜
- Tomari Y. Defining fundamental steps in the assembly of *Drosophila* RNAi enzyme complex, , 2013.12.3-6, MBSJ2013, 神戸国際会議場,神戸
- Siomi MC. PIWI-interacting RNA Biogenesis in *Drosophila*, Joint Conference of HGM 2013 and 21th International Congress of Genetics (招待講演), 2013.4.13-18, Marina Bay Sands, SINGAPORE
- Siomi MC. Cell Biology of RNA Turnover, EMBO Conference, Eukaryotic RNA Turn over from Structural Insights to Disease(招待講演), 2013.4.21-24, Strasbourg, FRANCE
- Siomi MC. PIWI-interacting RNAs in transposon silencing in *Drosophila*, MBSJ2013, 2013.12.3-6, 神戸国際会議場,神戸
- 西田知訓,加藤弓子,岩崎由香,渋谷あおい,斎藤都暁,塩見春彦,塩見美喜子. カイコ piRNA 生合成経路における BmQin の機能解析,第 15 回日本 RNA 学会年会,2013.7.23-25, 愛媛県民会館,松山
- Tomari Y. Assembly and function of RISC, the Institute of Human Genetics, Seminar, (招待講演) 2012.4.20, Montpellier, FRANCE
- Tomari Y. Assembly and function of RISC, “Small Silencing RNA Biology and Mechanism”:Fondation des Treilles (招待講演), 2012.4.23-28, Turtour, FRANCE
- 泊 幸秀.小さな RNA がはたらくしくみ, 情報機構「核酸医薬セミナー」(招待講演),2012.5.24, きゅりあん,東京

泊 幸秀. RNA サイレンシング複合体を組み立てる Hsc70/Hsc90 シャペロン装置の役割, 第 12 回日本蛋白質科学会年会, 2012.6.20-22, 名古屋国際会議場, 名古屋

泊 幸秀. small RNA の生化学, 第 14 回日本 RNA 学会年会, 2012.7.18-20. 東北大学, 仙台

Tomari Y. In vitro reconstitution of RISC assembly, Cold Spring Harbor Conference Asia "RNA Biology" (招待講演), 2012.10.8-12, Suzhou, CHINA

Tomari Y. Assembly and function of the RNAs-induced silencing complex, Sydney RNA Workshop (招待講演), 2012.11.27, Sydney, AUSTRALIA

Tomari Y. Small RNAs, 第 7 回日仏先端科学 (JFFoS) シンポジウム (招待講演), 2013.3.19-24, ロイヤルオークホテル, 大津

Siomi MC. Function and production of non-coding RNAs and their regulatory mechanisms, MBSJ2012, 2012.12.11-14, 福岡国際会議場, 福岡

Tomari Y. Assembly and function of RNA silencing complexes, Special Seminar "Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology" 2011.10.13, University of Massachusetts Medical School, USA

Fukaya T, Tomari Y. PABP is not essential for microRNA-mediated translational repression and deadenylation. Keystone Symposia "Gene Silencing by small RNAs" 2012.2.7-12, Vancouver, CANADA

Betancur JG, Tomari Y. Dicer is dispensable for asymmetric RISC loading in mammals, Keystone Symposia "Gene Silencing by small RNAs" 2012.2.7-12, Vancouver, CANADA

Yoda M, Tomari Y. Biochemical Characterization of Dicer-independent miR-451 Biogenesis, The 22nd CDB Meeting "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology II" 2012.6.11-13, 理研 CDB, 神戸

Fukaya T, Tomari Y. microRNAs block translation initiation via GW182-dependent and -independent pathways, The 22nd CDB Meeting "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology II" 2012.6.11-13, 理研 CDB, 神戸

小林真希, 河岡慎平, 光武宏, 木内隆史, 小林 淳, 勝間 進, 泊 幸秀, 内在性 piRNA クラスタによる外来配列の認識, RNA フロンティアミーティング 2011, 2011.8.31, あいち健康プラザ, 愛知県知多郡

Tomari Y. microRNAs: mechanism and function, 16th Anniversary Meeting of RNA Society, 2011.6.14, 京都国際会議場, 京都

Pieter Bas Kwak, Yukihide Tomari. Distinct Roles of Argonaute N-terminal Region in RISC Assembly, 16th Anniversary Meeting of RNA Society, 2011.6.14, 京都国際会議場, 京都

Fukaya T, Tomari Y. Poly(A)-binding protein is dispensable for miRNA-mediated deadenylation and translational repression, 16th Anniversary Meeting of RNA Society, 2011.6.14, 京都国際会議場, 京都

Tsutsumi A, Kawamata T, Tomari Y. Substrate recognition by *Drosophila* Dicer-1, Keystone Symposia, Mechanism and Biology of Silencing,

2011.3.20-25, Monterey, USA

Kawaoka S, Katsuma S, Tomari Y. In vivo recapitulation of primary piRNA biogenesis, Keystone Symposia, Mechanism and Biology of Silencing, 2011.3.20-25, Monterey, USA

Tomari Y. How are piRNAs made? Keystone Symposia, Mechanism and Biology of Silencing, (招待講演) 2011.3.20-25, Monterey, USA

泊 幸秀. 小さな RNA がはたらくしくみ, 第 13 回フロンティア生命化学研究会シンポジウム, (招待講演) 2011.1.7, 東北大学, 仙台

深谷雄志, 泊 幸秀. Analysis of microRNA mediated deadenylation in *Drosophila*, BMB2010, 2010.12.10. 神戸国際会議場, 神戸

包 明久, 川俣 朋子, 泊 幸秀. ショウジョウバエ Dicer-1 による基質認識, RNA フロンティアミーティング 2010, 2010.9.27, 富士教育研究所, 静岡県裾野

包 明久, 川俣 朋子, 泊 幸秀. ショウジョウバエ Dicer-1 による基質認識, 第 12 回日本 RNA 学会年会, 2010.7.27, 一ツ橋記念講堂, 東京

Tomari Y. How to make RISC, 5th Microsymposium on Small RNAs (招待講演), 2010.5.17, Vienna, AUSTRIA

Tomari Y. Multilayer Checkpoints for miRNA Authenticity, 19th CDB Meeting "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology" (招待講演) 2010.5.10-12, 理研 CDB, 神戸

Yoda M, Tomari Y. The Mirror-image Relationship between Unwinding and Target Recognition, 19th CDB Meeting "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology" 2010.5.10-12, 理研 CDB, 神戸

Tsutsumi A, Tomari Y. Substrate Recognition By *Drosophila* Dicer-1, 19th CDB Meeting "RNA Sciences in Cell and Developmental Biology" 2010.5.10-12, 理研 CDB, 神戸

[図書] (計 1 件)

Siomi MC. PIWI-interacting RNAs. *Methods Mol Biol.* 2014, XI, 249p

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: small RNA 二本鎖およびヘアピン型 RNA の設計方法

発明者: 泊 幸秀, 川俣朋子, 依田真由子

権利者: 東京大学

種類: 特許

番号: 2009-153798WO/2011/001965

出願年月日: 2009.6.29

国内外の別: 国内・国際 PCT

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泊 幸秀 (Yukihide Tomari)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
研究者番号: 90447368

(2) 研究分担者

塩見 美喜子 (Mikiko Siomi)

東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号: 20322745