

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 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：2009～2014

課題番号：21115004

研究課題名（和文）小分子RNA作用マシナリーの調節機構

研究課題名（英文）Regulation of functional machinery of small RNAs

研究代表者

程 久美子 (Ui-Tei, Kumiko)

東京大学・理学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：50213327

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 85,200,000円

研究成果の概要（和文）：小分子RNAとは約20塩基程度の小さなRNAであり、RNAサイレンシングあるいはRNA interference (RNA干渉)と呼ばれる現象によって、遺伝子発現を抑制する。RNAサイレンシングは、神経機能などの高次生命機能を制御したり、癌化などの重篤な疾病に関わることがわかっている。本研究では、小分子RNA作用マシナリーの調節機構を塩基対合の様式や、相互作用するRNA結合タンパク質との相互作用から解析した。

研究成果の概要（英文）：Small interfering RNA (siRNA) or microRNA (miRNA), approximately 20 nucleotides in length, directs the posttranscriptional repression of protein-coding genes in metazoans. In human cells, more than 1,500 miRNAs have been identified and predicted to regulate the activity of a great number of protein-coding genes to control many developmental and cellular processes, such as proliferation, apoptosis, differentiation, and neural functions; they are dysregulated in tumors and function as tumor suppressors or oncogenes. In the present study, we revealed the functional machinery of small RNAs by determining small RNA-mediated silencing efficacy using thermodynamics of base-pairing or by analyzing interacting mechanism of RNA binding proteins with small RNAs.

研究分野：Genome Information Biology

キーワード：small RNA small interfering RNA microRNA TNRC6A TRBP PACT thermodynamics base-pairing

1. 研究開始当初の背景

小分子 RNA は、標的となる mRNA の切断や翻訳抑制等を通して、様々な高次生命現象を緻密に制御している。一方で、その利点を利用した医薬応用にも大きな期待が寄せられている。一般に、小分子 RNA による標的 mRNA の認識は、相補的塩基対の形成に大きく依存するが、一方で単なる塩基対形成にとどまらない複雑な機構があることが示唆されている。本研究では、特に小分子 RNA の標的認識機構を中心に、siRNA の機能の調節機構を明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

小分子 RNA による RNA サイレンシング機構は Argonaute (Ago) に代表される一連のタンパク質によって制御されている。しかしながら、microRNA (miRNA) は、その塩基配列によって遺伝子の抑制効率が異なっており、その効率を調節する要因は不明であった。本研究では miRNA による抑制効率を調節する機構を、塩基対合の熱力学的性質から明らかにすることを目指した。また、RNA 結合タンパク質を中心とした RNA サイレンシングに関わる既知因子の未解明の調節作用の解明も目指した。さらに、近年注目されている CRISPR/Cas システムによるゲノム編集に用いるガイド RNA 設計ウェブサイトの構築を試みた。

3. 研究の方法

(1) microRNA (miRNA) の塩基対合力の熱力学的安定性はすでに報告されているパラメータを用いた最近接法によって計算した。しかし、A-to-I RNA editing が起こった後の I の塩基対合力についてはパラメータが明らかにされていないため、吸光光度計で実測した。

(2) ヒトの Trinucleotide repeat-containing 6A (TNRC6A) 遺伝子の Nuclear export signal (NES) および Nuclear localization signal (NLS) は、アミノ酸配列の詳細な検討によって見出した。それぞれの NES および NLS のアミノ酸に変異を導入したタンパク質をヒト HeLa 細胞で発現させて、その細胞内局在を観察することで、2つのドメインが核—細胞質輸送の機能に関わることを明らかにした。

(3) ヒト TAR RNA binding protein (TRBP) およびヒト Protein activator of PKR (PACT) タンパク質は、それぞれ大腸菌で合成して精製した。精製したタンパク質は 5'末端をラジオアイソトープ標識した siRNA および DNA-RNA キメラ型 siRNA と混合して、電気泳動によって両者の結合パターンを解析した。

(4) Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated (CRISPR/Cas) システムにおいてゲノムレベルで特異的と考えられるガイド RNA 配列を検索する

システムを、情報科学的手法で構築した。

4. 研究成果

(1) 熱力学的安定性の数値化による miRNA サイレンシング効率の定量化

miRNA による遺伝子抑制効率がどのように決まるのかは不明であった。我々は塩基対合の熱力学的安定性を最近接法により数値化し、miRNA による抑制効率を定量化することに成功した (Hibio *et al.*, *Sci. Rep.* 2012)。その結果、2本鎖の miRNA の 5'末端が不安定で、シード領域(5'末端から 2-8 塩基)と標的 mRNA との塩基対合が安定な miRNA は強いサイレンシング活性を示すことを明らかにした。このような熱力学的な抑制効率の制御は、miRNA のシード領域に A-to-I RNA editing が起こった場合にも同様に起こるため、RNA editing は miRNA の抑制効率を制御できる機構の1つであることを示した (Kume *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 2014)。さらに、塩基対合の安定性は温度によって大きな影響を受けるが、体温の異なる生物種の miRNA の熱力学的性質を、本研究で構築した手法を用いて数値化したところ、miRNA は進化の過程で体温による選択を受けていると考えられる興味深い結果が得られた (Hibio *et al.*, *Sci. Rep.* 2012)。

(2) TNRC6A による Ago-miRNA の核—細胞質間輸送機構の解明

miRNA による遺伝子抑制は主として細胞質で起こる現象と考えられてきた。一方で、核内にも miRNA や Ago が存在することや、それらが核内で転写やスプライシングを制御することも示唆されていた。しかしながら、これらが核内に運ばれる分子機構は不明であった。我々は RNA サイレンシングにおける翻訳抑制機構に重要な役割をもつ TNRC6A のアミノ酸一次配列の中に、核移行シグナルと核外移行シグナルの両方が存在することを見出した。そして、実際これらのシグナル配列を用いて TNRC6A が小分子 RNA と Ago タンパク質の核—細胞質間輸送タンパク質として機能することを明らかにした (Nishi *et al.*, *RNA* 2013)。

(3) 2本鎖 RNA 結合タンパク質 TRBP と PACT の RNA サイレンシングにおける機能の解析

TRBP や PACT は、RNA サイレンシングにおいて重要な機能をもつ 2本鎖 RNA 結合タンパク質とされながら、その作用機序については不明な点が多い。両者とも3つの2本鎖 RNA 結合ドメインからなる良く似た構造をもつタンパク質であるが、機能的相違は明らかではない。我々は生化学的手法により、siRNA は PACT よりも TRBP と強く相互作用することを明らかにし、TRBP が RNA サイレンシングにおける主たる因子である可能性を示した (Takahashi *et al.*, *PLoS ONE*, 2013)。さらに、DNA と RNA のキメラ型 siRNA という独自の手法を用いた研究から、

TRBP が siRNA に結合するために必要な siRNA の最小 RNA 領域を特定し、TRBP は siRNA の RISC への取り込みに関わるが、PACT は必要ないことなどを示した (Takahashi *et al.*, *Nucleic Acid Res.* 2014)。

(4) CRISPR/Cas システムにおけるオフターゲット効果の弱いガイド RNA 選択ウェブサイトの構築 CRISPR/Cas システムは、ガイドとなる RNA の塩基配列の相補性を用いて、任意のゲノム領域に変異を導入できる新しいゲノム編集法として注目されている。しかし、ガイド RNA の塩基配列によっては標的以外の場所で意図せずゲノム編集が起こってしまうことも知られており、オフターゲット効果とよばれている。オフターゲット効果を防ぎ、目的とするゲノム領域特異的なゲノム編集を行うためのガイド RNA 設計ウェブサイトを構築し、広く一般に公開している (Naito *et al.*, *Bioinformatics* 2014)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 50 件)

(1) Fc gamma receptor IIb participates in maternal IgG trafficking of human placental endothelial cells. Ishikawa T, Takizawa T, Iwaki J, Mishima T, Ui-Tei K, Takeshita T, Matsubara S, Takizawa T. *Int. J. Mol. Med.* 35, 1273-1789. doi: 10.3892/ijmm.2015.2141. 査読有

(2) Renal tubule angiotensin II type 1 receptor-associated protein promotes natriuresis and inhibits salt-sensitive blood pressure elevation. Wakui H, Uneda K, Tamura K, Ohsawa M, Azushima K, Kobayashi R, Ohki K, Dejima T, Kanaoka T, Tsurumi-Ikeya Y, Matsuda M, Haruhara K, Nishiyama A, Yabana M, Fujikawa T, Yamashita A, Umemura S. *J Am Heart Assoc.* 2015 Mar 19;4(3), e001594. doi: 10.1161/JAHA.114.001594. 査読有

(3) Mutations in the glutaminyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. Kodera H, Osaka H, Iai M, Aida N, Yamashita A, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. *J Hum Genet.* 2015 Feb;60(2), 97-101. doi: 10.1038/jhg.2014.103. Epub 2014 Dec 4. 査読有

(4) CRISPRdirect: software for designing CRISPR/Cas guide RNA with reduced off-target sites. *Naito Y, Hino K, Bono H, Ui-Tei K. *Bioinformatics.* 2014 Nov 20, 1-4. doi: 10.1093/bioinformatics/btu743. 査読有

科学新聞「「ゲノム編集の有力手法」ガイド RNA 設計ソフト開発」(2014 年 12 月 11 日)

(5) Deletion of the angiotensin II type 1 receptor-associated protein enhances renal sodium reabsorption and exacerbates angiotensin II-mediated hypertension., Ohsawa M, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Dejima T, Kanaoka T, Azushima K, Uneda K, Tsurumi-Ikeya Y, Kobayashi R, Matsuda M, Uchida S, Toya Y, Kobori H, Nishiyama A, Yamashita A, Ishikawa

Y, Umemura S. *Kidney Int.* 2014 Sep;86(3), 570-81. doi: 10.1038/ki.2014.95. Epub 2014 Apr 2. 査読有

(6) A novel phosphorylation-independent interaction between SMG6 and UPF1 is essential for human NMD., Nicholson P, Josi C, Kurosawa H, Yamashita A, Mühlemann O. *Nucleic Acids Res.* 2014 Aug;42(14), 9217-35. doi: 10.1093/nar/gku645. Epub 2014 Jul 22. 査読有

(7) aPKC λ maintains the integrity of the glomerular slit diaphragm through trafficking of nephrin to the cell surface. Satoh D, Hirose T, Harita Y, Daimon C, Harada T, Kurihara H, Yamashita A, Ohno S. *J Biochem.* 2014 Aug;156(2), 115-28. doi: 10.1093/jb/mvu022. Epub 2014 Apr 3. 査読有

(8) Structures of SMG1-UPFs complexes: SMG1 contributes to regulate UPF2-dependent activation of UPF1 in NMD. Melero R, Uchiyama A, Castaño R, Kataoka N, Kurosawa H, Ohno S, Yamashita A, Llorca O. *Structure.* 2014 Aug 5;22(8), 1105-19. doi: 10.1016/j.str.2014.05.015. Epub 2014 Jul 4. 査読有

(9) Effects of the Angiotensin receptor blocker olmesartan on adipocyte hypertrophy and function in mice with metabolic disorders. Maeda A, Tamura K, Wakui H, Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Kanaoka T, Kobayashi R, Ohki K, Matsuda M, Tsurumi-Ikeya Y, Yamashita A, Tokita Y, Umemura S. *Biomed Res Int.* 2014;2014, 946492. doi: 10.1155/2014/946492. Epub 2014 Jun 2. 査読有

(10) A-to-I editing in the miRNA seed region regulates target mRNA selection and silencing efficiency. Kume H, Hino K, Galipon J, *Ui-Tei K. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(15), 10050-60. doi: 10.1093/nar/gku662, 査読有

(11) Interactions between the non-seed region of siRNA and RNA-binding RLC/RISC proteins, Ago and TRBP, in mammalian cells. Takahashi T, Zenno S, Ishibashi O, Takizawa T, Saigo K, *Ui-Tei K. *Nucleic Acids Res.* 2014 Apr;42(8), 5256-69. doi: 10.1093/nar/gku153, 査読有

(12) Fluctuation of Rac1 activity is associated with the phenotypic and transcriptional heterogeneity of glioma cells. Yukinaga H, Shionyu C, Hirata E, Ui-Tei K, Nagashima T, Kondo S, Okada-Hatakeyama M, Naoki H, *Matsuda M. *J Cell Sci.* 2014 Apr 15;127(Pt 8), 1805-15., doi:10.1242/jcs.139733, 査読有

(13) Effects of Ang II receptor blocker irbesartan on adipose tissue function in mice with metabolic disorders. Maeda A, Tamura K, Wakui H, Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Kobayashi R, Tsurumi-Ikeya Y, Kanaoka T, Dejima T, Ohki K, Haku S, Yamashita A, Umemura S. *Int J Med Sci.* 2014 Apr 27;11(6), 646-51. doi: 10.7150/ijms.8577. eCollection 2014. 査読有

(14) A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? Imagawa E, Osaka H,

- Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, Matsumoto N, Miyake N. *Hum Genet.* 2014 Feb;133(2), 225-34. doi: 10.1007/s00439-013-1372-6. Epub 2013 Oct 8. 査読有
- (15) Activation of angiotensin II type 1 receptor-associated protein exerts an inhibitory effect on vascular hypertrophy and oxidative stress in angiotensin II-mediated hypertension. Wakui H, Dejima T, Tamura K, Uneda K, Azuma K, Maeda A, Ohsawa M, Kanaoka T, Azushima K, Kobayashi R, Matsuda M, Yamashita A, Umemura S. *Cardiovasc Res.* 2013 Dec 1;100(3), 511-9. doi: 10.1093/cvr/cvt225. Epub 2013 Nov 4. 査読有
- (16) Bofu-tsu-shosan, an oriental herbal medicine, exerts a combinatorial favorable metabolic modulation including antihypertensive effect on a mouse model of human metabolic disorders with visceral obesity. Azushima K, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Ohsawa M, Uneda K, Kobayashi R, Kanaoka T, Dejima T, Fujikawa T, Yamashita A, Toya Y, Umemura S. *PLoS One.* 2013 Oct 9;8(10), e75560. doi: 10.1371/journal.pone.0075560. eCollection 2013. 査読有
- (17) The novel PAR-1-binding protein MTCL1 has crucial roles in organizing microtubules in polarizing epithelial cells. Sato Y, Akitsu M, Amano Y, Yamashita K, Ide M, Shimada K, Yamashita A, Hirano H, Arakawa N, Maki T, Hayashi I, Ohno S, Suzuki A. *J Cell Sci.* 2013 Oct 15;126(Pt 20), 4671-83. doi: 10.1242/jcs.127845. Epub 2013 Jul 31. 査読有
- (18) An epigenetic switch is crucial for spermatogonia to exit the undifferentiated state toward a Kit-positive identity. Shirakawa T, Yaman-Deveci R, Tomizawa S, Kamizato Y, Nakajima K, Sone H, Sato Y, Sharif J, Yamashita A, Takada-Horisawa Y, Yoshida S, Ura K, Muto M, Koseki H, Suda T, Ohbo K. *Development.* 2013 Sep;140(17), 3565-76. doi: 10.1242/dev.094045. Epub 2013 Jul 31. 査読有
- (19) Nonsense-mediated mRNA decay - mechanisms of substrate mRNA recognition and degradation in mammalian cells. Schweingruber C, Rufener SC, Zünd D, Yamashita A, Mühlemann O. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Jun-Jul;1829(6-7), 612-23. doi: 10.1016/j.bbagr.2013.02.005. Epub 2013 Feb 20. 査読有
- (20) Angiotensin receptor-binding protein ATRAP/Agtrap inhibits metabolic dysfunction with visceral obesity. Maeda A, Tamura K, Wakui H, Dejima T, Ohsawa M, Azushima K, Kanaoka T, Uneda K, Matsuda M, Yamashita A, Miyazaki N, Yatsu K, Hirawa N, Toya Y, Umemura S. *J Am Heart Assoc.* 2013 Jul 31;2(4), e000312. doi: 10.1161/JAHA.113.000312. 査読有
- (21) Optimal choice of functional and off-target effect-reduced siRNAs for RNAi therapeutics. *Ui-Tei K. *Front Genet.* 2013 Jun 11;4, 107. doi:10.3389/fgene.2013.00107, 査読有
- (22) Enhanced angiotensin receptor-associated protein in renal tubule suppresses angiotensin-dependent hypertension. Wakui H, Tamura K, Masuda S, Tsurumi-Ikeya Y, Fujita M, Maeda A, Ohsawa M, Azushima K, Uneda K, Matsuda M, Kitamura K, Uchida S, Toya Y, Kobori H, Nagahama K, Yamashita A, Umemura S. *Hypertension.* 2013 Jun;61(6), 1203-10. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00572. Epub 2013 Mar 25. 査読有
- (23) Upstream stimulatory factors 1 and 2 mediate the transcription of angiotensin II binding and inhibitory protein. Matsuda M, Tamura K, Wakui H, Maeda A, Ohsawa M, Kanaoka T, Azushima K, Uneda K, Haku S, Tsurumi-Ikeya Y, Toya Y, Maeshima Y, Yamashita A, Umemura S. *J Biol Chem.* 2013 Jun 28;288(26), 19238-49. doi: 10.1074/jbc.M113.451054. Epub 2013 May 7. 査読有
- (24) Fluctuation of Global Gene Expression by Endogenous miRNA Response to the Introduction of an Exogenous miRNA. Nagata Y, Shimizu E, Hibio N, *Ui-Tei K. *Int J Mol Sci.* 2013 May 27;14(6), 11171-89, doi:10.3390/ijms140611171, 査読有
- (25) Distinguishable in vitro binding mode of monomeric TRBP and dimeric PACT with siRNA. Takahashi T, Miyakawa T, Zenno S, Nishi K, Tanokura M, *Ui-Tei K. *PLoS One.* 2013 May 2;8(5), e63434. doi:10.1371/journal.pone.0063434, 査読有
- (26) Role of SMG-1-mediated Upf1 phosphorylation in mammalian nonsense-mediated mRNA decay. Yamashita A. *Genes Cells.* 2013 Mar;18(3), 161-75. doi: 10.1111/gtc.12033. Epub 2013 Jan 28. 査読有
- (27) The physiology and pathophysiology of a novel angiotensin receptor-binding protein ATRAP/Agtrap. Tamura K, Wakui H, Maeda A, Dejima T, Ohsawa M, Azushima K, Kanaoka T, Haku S, Uneda K, Masuda S, Azuma K, Shigenaga A, Koide Y, Tsurumi-Ikeya Y, Matsuda M, Toya Y, Tokita Y, Yamashita A, Umemura S. *Curr Pharm Des.* 2013;19(17), 3043-8. 査読有
- (28) Human TNRC6A is an Argonaute-navigator protein for microRNA-mediated gene silencing in the nucleus. , Nishi K, Nishi A, Nagasawa T, *Ui-Tei K. *RNA.* 2013 Jan;19(1), 17-35. doi:10.1261/rna.034769.112, 査読有
- 日刊工業新聞「マイクロRNA 細胞核への輸送—東大が仕組み解明」(2012年11月19日)
- (29) Designing functional siRNA with reduced off-target effects. Naito Y, *Ui-Tei K. *Methods Mol Biol.* 2013;942, 57-68. doi: 10.1007/978-1-62703-119-6_3. 査読有

- (30) Stability of miRNA 5'terminal and seed regions is correlated with experimentally observed miRNA-mediated silencing efficacy. Hibio N, Hino K, Shimizu E, Nagata Y, *Ui-Tei K. *Sci Rep*. 2012;2, 996. doi:10.1038/srep00996, 2012. 査読有
- (31) siRNA Design Software for a Target Gene-Specific RNA Interference. *Naito Y, Ui-Tei K. *Front Genet*. 2012 Jun 11;3, 102. doi: 10.3389/fgene.2012.00102, 査読有
- (32) Thermodynamic Control of Small RNA-Mediated Gene Silencing. *Ui-Tei K, Nishi K, Takahashi T, Nagasawa T. *Front Genet*. 2012 Jun 4 ; 3,101. doi:10.3389/fgene.2012.00101, 査読有
- (33) E-cadherin is transcriptionally activated via suppression of ZEB1 transcriptional repressor by small RNA-mediated gene silencing. Mazda M, Nishi K, Naito Y, *Ui-Tei K. *PLoS One*. 2011;6(12):e28688.,doi:10.1371/journal.pone.0028688. 査読有
- Faculty of 1000 に選択
- (34) Enhanced specificity of HPV16 E6E7 siRNA by RNA-DNA chimera modification. *Yamato K, Egawa N, Endo S, Ui-Tei K, Yamada T, Saigo K, Hyodo I, Kiyono T, Nakagawa I. *Cancer Gene Ther*. 2011 Aug;18(8), 587-97, doi:10.1038/cgt.2011.28. 査読有
- (35) LacdiNAc (GalNAc β 1-4GlcNAc) contributes to self-renewal of mouse embryonic stem cells by regulating leukemia inhibitory factor/STAT3 signaling. Sasaki N, Shinomi M, Hirano K, Ui-Tei K, *Nishihara S. *Stem Cells*. 2011 Apr;29(4):641-50. doi: 10.1002/stem.615. 査読有
- (36) Robust and photocontrollable DNA capsules using azobenzenes. Tanaka F, Mochizuki T, Liang X, Asanuma H, Tanaka S, Suzuki K, Kitamura S, Nishikawa A, Ui-Tei K, *Hagiya M. *Nano Lett*. 2010 Sep 8;10(9), 3560-5. doi: 10.1021/nl101829m., 査読有
- (37) Sunspot, a link between Wingless signaling and endoreplication in Drosophila. Taniue K, Nishida A, Hamada F, Sugie A, Oda T, Ui-Tei K, Tabata T, *Akiyama T. *Development*. 2010 May;137(10), 1755-64. , doi:10.1242/dev.042077., 査読有
- (38) Gene expression of Spag6 in chick central nervous system. *Hamada T, Teraoka M, Imaki J, Ui-Tei K, Ladher RK, Asahara T. *Anat Histol Embryol*. 2010 Jun;39(3), 227-32., doi: 10.1111/j.1439-0264.2010.01000.x. Epub 2010 Apr 6. 査読有
- (39) siDirect 2.0: updated software for designing functional siRNA with reduced seed-dependent off-target effect. *Naito Y, Yoshimura J, Morishita S, *Ui-Tei K. *BMC Bioinformatics*. 2009 Nov 30;10, 392., doi:10.1186/1471-2105-10-392. 査読有
- (40) LacdiNAc (GalNAc β 1-4GlcNAc) contributes to self-renewal of mouse embryonic stem cells by regulating leukemia inhibitory factor/STAT3 signaling. Sasaki N, Shinomi M, Hirano K, Ui-Tei K, Nishihara S. *Stem Cells*. 2011 Apr;29(4), 641-50. doi: 10.1002/stem.615. 査読有
- (41) Mutations in POLR3A and POLR3B encoding RNA Polymerase III subunits cause an autosomal-recessive hypomyelinating leukoencephalopathy. Saito H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shibayama H, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, Matsumoto N. *Am J Hum Genet*. 2011 Nov 11;89(5), 644-51. doi:10.1016/j.ajhg.2011.10.003. Epub 2011 Oct 27. 査読有
- (42) Integrated regulation of PIKK-mediated stress responses by AAA+ proteins RUVBL1 and RUVBL2. Izumi N, Yamashita A, Ohno S. *Nucleus*. 2012 Jan-Feb;3(1), 29-43., doi: 10.4161/nucl.18926. 査読有
- (43) N- and C-terminal Upf1 phosphorylations create binding platforms for SMG-6 and SMG-5:SMG-7 during NMD. Okada-Katsuhata Y, Yamashita A, Kutsuzawa K, Izumi N, Hirahara F, Ohno S. *Nucleic Acids Res*. 2012 Feb;40(3), 1251-66. doi: 10.1093/nar/gkr791. Epub 2011 Sep 29. 査読有
- (44) Heat shock protein 90 regulates phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase family proteins together with the RUVBL1/2 and Tel2-containing co-factor complex., Izumi N, Yamashita A, Hirano H, Ohno S. *Cancer Sci*. 2012 Jan;103(1), 50-7. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02112.x. Epub 2011 Oct 24. 査読有
- (45) A novel role for hSMG-1 in stress granule formation. Brown JA, Roberts TL, Richards R, Woods R, Birrell G, Lim YC, Ohno S, Yamashita A, Abraham RT, Gueven N, Lavin MF. *Mol Cell Biol*. 2011 Nov;31(22), 4417-29. doi: 10.1128/MCB.05987-11. Epub 2011 Sep 12. 査読有
- (46) A member of the ETS family, EHF, and the ATPase RUVBL1 inhibit p53-mediated apoptosis. Taniue K, Oda T, Hayashi T, Okuno M, Akiyama T. *EMBO Rep*. 2011 Jul 1;12(7), 682-9., doi: 10.1038/embor.2011.81. 査読有
- (47) Tyrosine phosphatase PTPRD suppresses colon cancer cell migration in coordination with CD44. Funato K, Yamazumi Y, Oda T, Akiyama T., *Exp Ther Med*. 2011 May;2(3), 457-463. Epub 2011 Mar 21. 査読有
- (48) Analysis of interferon-beta mRNA stability control after poly(I:C) stimulation using RNA metabolic labeling by ethynyluridine. Abe K, Ishigami T, Shyu AB, Ohno S, Umemura S, Yamashita A. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Nov 9;428(1), 44-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.09.144. Epub 2012 Oct 9. 査読有
- (49) Basic and clinical studies on functional RNA molecules for advanced medical

technologies. Takizawa T¹, Gemma A, Ui-Tei K, Aizawa Y, Sadovsky Y, Robinson JM, Seike M, Miyake K. *J Nippon Med Sch*. 2010 Apr;77(2), 71-9. 査読有

(50) Gene expression of Spag6 in chick central nervous system. Hamada T¹, Teraoka M, Imaki J, Ui-Tei K, Ladher RK, Asahara T. *Anat Histol Embryol*. 2010 Jun;39(3), 227-32., doi: 10.1111/j.1439-0264.2010.01000.x. Epub 2010 Apr 6. 査読有

〔学会発表〕(計 81 件)

(1) Yuki Naito, Kimihiro Hino, Kumiko Ui-Tei, Hidemasa Bono CRISPRdirect: web-based tool for designing CRISPR/Cas guide RNA with reduced off-target sites Oxford Symposia CRISPR 2015 OXFORD: Technology and Application (2015.3.23) Oxford, UK

(2) Tomoko Takahashi, Shuhei Zenno, Kenji Nishi, Kumiko Ui-Tei "Functional conversion of a key regulator of RNA silencing, TRBP, during apoptosis in mammalian cell" 第 37 回日本分子生物学会年会 (2014.11.26) パシフィコ横浜 (神奈川県)

(3) 村上 文則、高橋 朋子、程 久美子「二本鎖 RNA 結合タンパク質 TRBP と相互作用する RNA の網羅的解析」第 37 回日本分子生物学会年会 (2014.11.26) パシフィコ横浜 (神奈川県)

(4) 須澤 壮崇、西 賢二、秦 裕子、尾山 大明、程 久美子「TNRC6A タンパク質の核内複合体構成因子の網羅的同定とその解析」第 37 回日本分子生物学会年会 (2014.11.26) パシフィコ横浜 (神奈川県)

(5) Soh Ishiguro, Josephine Galipon, Rintaro Ishii, Yutaka Suzuki, Shinji Kondo, Mariko Okada-Hatakeyama, Masaru Tomita, Kumiko Ui-Tei "Validation of A-to-I RNA editing sites identified by RIP-seq in human miRNAs" 第 37 回日本分子生物学会年会 (2014.11.26) パシフィコ横浜 (神奈川県)

(6) Kumiko Ui-Tei Control of RNA silencing by thermodynamics in the nucleotide base-pairing 第 41 回国際核酸化学シンポジウム(ISNAC2014) (2014.11.7) 北九州国際会議場 (福岡県)

(7) Josephine Galipon, Rintaro Ishii, Soh Ishiguro1, Yutaka Suzuki, Shinji Kondo, Mariko Okada-Hatakeyama, Masaru Tomita, Kumiko Ui-Tei Specificity of miRNA A-to-I editing by different human ADAR isoforms. 第 16 回日本 RNA 学会年会 (2014.7.23) ウィンクあいち (愛知県)

(他 74 件)

〔図書〕(計 16 件)

(1) 高橋朋子、程久美子、羊土社、「第 2 章 12. miRBase ~ マイクロ RNA のデータベース ~」実験医学増刊 今日から使える！データベース・ウェブツール、2014、86-87

(2) 日野公洋、内藤雄樹、坊農秀雅、程久美子、羊土社、「第 2 章 24. CRISPRdirect ~ CRISPR/Cas9 ゲノム編集法のガイド RNA 設計ツール ~」実験医学増刊 今日から使える！データベース・ウェブツール、2014、114-115

(3) 日野公洋、内藤雄樹、坊農秀雅、程久美子、羊土社、「CRISPR/Cas システムにおけるターゲット配列の認識機構とオフターゲット効果の現状」実験医学 CRISPR/Cas が生命科学を加速する、2014、1697-1703

(4) 西賢二、日野公洋、程久美子、羊土社、「実践編 章—2 遺伝子発現抑制効果を評価する siRNA による RNAi を例に」実験医学別冊 最強のステップ UP シリーズ 原理からよくわかるリアルタイム PCR、2013、83-90

(5) 程久美子、北條浩彦、羊土社、「第 3 章 RNAi 実験の準備と実践 1. RNAi の原理」実験医学別冊 目的別で選べる 遺伝子導入プロトコル 2012、40-43

(6) 程久美子、羊土社、「第 3 章 RNAi 実験の準備と実践 2. siRNA デザインの方法と検索ウェブサイト」実験医学別冊 目的別で選べる 遺伝子導入プロトコル、2012、44-49

(7) 山下暁朗、横浜市立大学医学会、横浜医学 2012 年 6 月 30 巻 9 号、2012、10

(8) 内藤雄樹、山田智之、程久美子、森下真一、西郷薫、シーエムシー出版、「効率的な siRNA の設計」RNA 工学の基礎と応用(普及版)、2010、104-113

(他 8 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://ui-tei.rnai.jp/>

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~ohnos/Japanease/indexJ.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

程 久美子 (UI-TEI, Kumiko)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：50213327

(2)研究分担者 (平成 21~22 年度)

西村 教子 (NISHIMURA, Yukiko)

東京大学・分子細胞生物学研究所・特任助教

研究者番号：30514567

(3)研究分担者 (平成 23~25 年度)

山下 暁朗 (YAMASHITA, Akio)

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：20405020

(4)研究分担者 (平成 23~25 年度)

小田 健昭 (ODA, Takeaki)

東京大学・分子細胞生物学研究所・研究員

研究者番号：00608523