

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20310115

研究課題名（和文）

ホヤゲノムにコードされる小分子 RNA の包括的探索

研究課題名（英文）

Comprehensive finding of small RNAs encoded in a *Ciona* genome

研究代表者

中井 謙太 (NAKAI KENTA)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：60217643

研究成果の概要（和文）：

近年、miRNA 等の小分子 RNA が、広い範囲の生命現象に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。そこで本研究では、脊椎動物のモデル生物（ホヤ）の転写制御に関するこれまでの研究経験をいかして、理論と実験を組み合わせ、ホヤゲノムにコードされた小分子 RNA を包括的に検出し、その特徴付けを行った。その結果、新しい miRNA 遺伝子候補群を信頼度付きで得たほか、いくつか興味深い発現パターンを示すものについては、ヒトなどとの対応遺伝子との進化的保存性と多様性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

In recent years, it has been clarified that small RNAs, like miRNAs, play important roles in a wide range of cellular activities. In this study, taking the advantage of our collaborative experience in the analysis of transcriptional regulation in *Ciona intestinalis*, a model organism of vertebrates, we predicted a comprehensive set of miRNAs encoded in the *Ciona* genome. Then, a list of novel candidate genes were obtained with a reliability measure. For some genes showing interesting expression pattern, their evolutionary divergence/conservation was clarified through more detailed characterization.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2009 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2010 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：比較ゲノム学、進化発生遺伝学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・基礎ゲノム科学

キーワード：ゲノム解析、組織特異的発現、カタユレイボヤ、メダカ、miRNA、Piwi、進化的保存

1. 研究開始当初の背景

1998 年に線虫において、RNAi という現象が発見されたこと等を契機にして、生物のゲノム中には多数の小分子 RNA がコード

されており、それらが遺伝子発現の抑制などの多彩な機能を果たしていることが明らかにされつつあった。そのため、研究開始当初、線虫などのモデル生物、ヒト・マウスなどの哺乳類、植物などにおいて、主に microRNA

(miRNA)とよばれる代表的な小分子 RNA の遺伝子をバイオインフォマティクスや EST などの実験データを組み合わせることで、ゲノムから網羅的に検出する研究がなされていた。さらに、同定された miRNA のマイクロアレイによる発現解析、*in silico* 標的遺伝子探索、人工核酸 LNA プローブによる *in situ* ハイブリダイゼーションなどが行われていた。研究代表者の中井はバイオインフォマティクスの専門家で、最近では主に転写制御領域の研究に取り組んできた。特に平成 17 年度から 2 年間、基盤研究 B で研究分担者の日下部と共に、カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) の組織特異的発現を担うプロモーター領域のもつ配列上の共通構造解明に取り組んできた。一方、中井は以前から東大新領域の菅野純夫教授・鈴木穰准教授(研究協力者)と完全長 cDNA の手法を応用した転写開始点同定を行ってきた。菅野らは次世代 DNA シークエンサーを導入し、従来とは桁違いに大量の EST データを産出しつつあり、その中で日下部が提供したホヤのサンプルから、高品質と思われる大量 EST データが得られた。このデータと、中井のバイオインフォマティクス技術を組み合わせれば、ホヤゲノム中の非コード RNA 遺伝子を効率よく抽出できるのではないかと考えたのが、この研究の着想の発端である。実際、小分子 RNA を無視しては、ホヤの遺伝子制御ネットワークを包括的に理解することは不可能であるという意味で、本研究は従来の路線にある。より確実性の高い研究計画にするために、ゼブラフィッシュで小分子 RNA 研究に実績のある井上を研究分担者に加え、単にホヤにおいて他の生物の後追いをするのではなく、ホヤの特性をいかして、脊椎動物のゲノム制御の理解に迫ろうと計画した。

2. 研究の目的

近年、miRNA などの小分子 RNA (ncRNA) が、さまざまなメカニズムで広い範囲の細胞機能や発生過程に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。また、それら小分子 RNA の生合成や機能発現には Dicer, Drosha, Piwi/Argonaute などの遺伝子ファミリーも種を超えて関わっていることが明らかにされつつある。そこで本研究では、これまで我々が行ってきた脊椎動物のモデル生物(ホヤ)の転写制御領域に関する研究経験をいかして、理論と実験を組み合わせ、ホヤゲノムにコードされた小分子 RNA を包括的に検出し、その特徴付けを行った。ホヤ研究に役立つ研究基盤を提供するとともに、小型魚類(ゼブラフィッシュ・メダカ)との保存性を調べて、脊椎動物における研究への新しい角度からの貢献をも目

指した。ただし、当初の申請書提出後、海外で関連研究が論文発表されたため

(Norden-Krichmar et al., BMC Genomics 8, 445, 2007)、最初の予測と検証はあまり方法論の新しさにはこだわらずになるべく早い時期に行い、次のステップの脊椎動物との比較研究につながる発見を早められるように努力することとした。特に、miRNA がホエヤや脊椎動物の神経発生に重要な役割を果たしていることが明らかにされつつあるが、ホヤの神経系の発生と機能研究では日下部のグループが世界をリードしているので、このあたりに関係していそうな miRNA (とその生合成系)にも着目した。また、ホヤのゲノム配列はいまだドラフトの状態、遺伝子モデルも確定的なものがなく、研究者を悩ませているが、本研究の副産物として、タンパク質をコードしている遺伝子のモデルの改善への貢献も目指した。

3. 研究の方法

本研究計画の採択後の状況変化も踏まえ、以下の4つの角度から研究を進めることとした。

(1) カタユウレイボヤ小分子 RNA の網羅的同定

手に入る限りのホヤ miRNA の予測結果を収集して、互いの重なり具合を調べる。それぞれの予測精度を推定し、予測精度を加味した多数決をとるイメージで、標準的な miRNA のデータベース(miRBase)に掲載されていない miRNA を信頼度順にリストアップし、進化的保存性、EST、*in situ* ハイブリダイゼーション等の方法で検証する。さらに、次世代シークエンサーを用いて、piRNA なども含めた小分子 RNA の検出を行う。

(2) ホヤゲノムにコードされる代表的 miRNA の同定と発現パターン、および発現制御機構の解析

他の生物種で組織特異的発現を行っていることが知られている miRNA のホヤホモログを探索し(今回は筋肉と神経に特異的な発現をしているものに注目した)、ノザン解析、*in situ* ハイブリダイゼーション解析などで実際の発現を確認した上で、TSS-seq 解析により転写開始点を調べ、さらにその上流領域の構造をレポーターアッセイなどで解析する。

(3) miRNA の進化保存性と多様性の解析

少なくともいくつかの miRNA は、ホヤやナメクジウオなどの脊椎動物の祖先筋にあたる生物種からヒトに至るまで広く保存されている。ホヤ miRNA の遺伝子構造をさまざまな生物のそれと比較することで、その進

化の理解を目指す。上述の組織特異的発現を行うホヤ miRNA については、その魚類におけるホモログで並行して機能解析を行う。

(4) 小分子機能性 RNA の生合成・作用機序に関わるタンパク質ファミリーの解析

Dicer や Argonoutase など、小分子 RNA の機能発現に不可欠の遺伝子の発現パターンを *in situ* ハイブリダイゼーションによって解析し、ヒトなどとの違いを調べる。さらに、それらをノックダウンさせて、ホヤにおける機能発現系の理解に努める。ホヤではこれらの遺伝子のパラログの数がヒトと比べて少なめなので、顕著な結果が得られる可能性がある。

4. 研究成果

(1) カタユウレイボヤ小分子 RNA の網羅的同定

ホヤゲノムにおける miRNA 遺伝子の予測結果を発表済み/未発表のものを含め、4 種類入手した。すなわち、Norden-Krichmar et al., BMC Genomics 8, 445, 2007 (以下 Norden と略記) と Hendrix et al., Genome Biol. 11, R39, 2010 (以下 Hendrix) による論文発表済みの結果と、現慶応大学理工学部の佐藤健吾氏による未発表の予測結果 (以下 Sato)、インテックシステム研究所 (株) の寺井悟朗氏による投稿中の予測結果 (以下 Terai) である。Sato と Terai はスコア付きで多くの候補を提出しており、予測スコアの閾値をどこにとるかによって、予測精度の評価値が大きく変わるので、標準的なデータベース miRBase との一致をみたときの再現率が最大になるように閾値をとった。miRBase の内容 (本稿執筆時には 195 の遺伝子を含む) と予測結果は互いに独立ではないし、miRBase に収められていない miRNA 遺伝子も存在するため、あくまで目安でしかないが、miRBase を完全正解と仮定したときの、それぞれの適合率と再現率を求めた。誤解を招きやすいので、その数値はここではださないが、Hendrix の再現率が 100% 近くと突出して高く、現在の miRBase がこの内容に頼っていることが想像される。適合率は Sato を除くと、7 割から 8 割程度であった。miRBase に含まれていながら、4 つの予測結果のどれにも含まれていなかった遺伝子が 3 つあった。

さらにそれぞれの予測結果と miRBase を含め、互いの情報の重なりを調べた。このとき、便宜的に二つの配列が 14 塩基以上重なるときには同じとみなした。その結果、miRBase を含め、すべての方法で予測された遺伝子が 1 個、3 種類の方法で予測された遺伝子が 2 個あったほか、2 種類の方法で予測された遺伝子が 28 個あることがわかった。

この数は予想外に少なく、miRNA の予測はまだ簡単ではないことを示しているものと思われる。

さらに miRBase には含まれない新規遺伝子候補を探索するために、すべての予測遺伝子について、予測を行った方法の適合率に基づく簡単なスコア付けをした。すなわち、ある遺伝子のスコアは、その遺伝子を予測した方法すべての適合率の和とした。得られたスコアの順に遺伝子をソートすると、上位 200 程度はほとんどが miRBase に収録された既知遺伝子となったが、Terai による 2 個の予測遺伝子と Hendrix による 50 個程度の予測遺伝子は検討に値する候補として得られた。現在、さらなる検討を行っており、結果を論文等で公表する予定である (TSS-seq で得られた遺伝子の転写開始点情報は限定的にすでに公共データベースに公開している)。

なお、上述のように米国のグループの次世代シーケンサーを用いた先行研究 (Shi et al., Nat. Struct. Mol. Biol., 16, 183-189, 2009; Hendrix et al., 2010) により、カタユウレイボヤ miRNA の大規模解析が行われたが、解析対象とされた発生段階が限定されており、また成体についても組織別の解析はなされていなかった。また、miRNA 以外の小分子 RNA、特に後で述べるように我々が注目している Piwi と相互作用する piRNA については報告がない。そこで我々は、先行研究で解析が不十分な遊泳幼生と成体各組織について、次世代シーケンサーを用いて、miRNA だけでなく piRNA も対象として小分子 RNA の解析を行った。これまでに、解析対象としたすべての発生段階、組織について大規模シーケンシングを終了し、現在、計算機による解析を行っている。

(2) ホヤゲノムにコードされる代表的 miRNA の同定と発現パターン、および発現制御機構の解析

① 筋肉特異的 miRNA

筋肉特異的に発現する代表的な miRNA として、miR-1 と miR-133 が知られている。脊椎動物の miR-1 と miR-133 は同一染色体の近傍領域に連鎖している。カタユウレイボヤゲノムにおける相同領域を検索した結果、miR-1/miR-133 がホヤゲノム中、シングルコピーであること、脊椎動物と類似のクラスター構造をもち、脊椎動物と同様に *mib* (*mindbomb*) 遺伝子のイントロンに存在することを見いだした。

カタユウレイボヤ miR-1 と miR-133 の発現プロファイルについて、5'EST のマッピング、ノザン解析、RT-PCR 解析を行い、miR-1 と miR-133 は成体の筋肉組織 (心筋、体壁筋) で発現が顕著であること、両者の発現パターンに明瞭な違いがあり、それぞれ異なる発現

制御を受けている可能性があることが示された。RT-PCR解析により、miR-1とmiR-133のそれぞれの前駆体の発現が検出され、さらに、miR-1とmiR-133のひと続きの転写産物が検出された。このことは、ホヤmiR-1とmiR-133が、少なくとも転写レベルでは同一の制御を受けていることを示唆している。しかしながら、ノザン解析によるとmiR-1とmiR-133の組織特異性に明らかな違いがみられる。これには、転写後の前駆体RNAから成熟miRNAへの成熟に至るいずれかのプロセスにおける制御が考えられるが、これを明らかにするには至っていない。また、転写レベルでも、miR-1とmiR-133のスペーサー領域からも転写開始が行われている可能性は残されている。今後、ホヤmiR-1とmiR-133の差次的発現の機構をさらに追求することにより、組織特異的なmiRNAの制御機構に関する新しい発見につながる可能性がある。

miR-1とmiR-133は胚や幼生においても発現が認められたため、これらの発生段階における空間的発現パターンをホールマウント *in situ* ハイブリダイゼーション法により解析した。まず、LNAプローブを用いた解析を行ったところ、明瞭なシグナルが検出されなかった。そこで、次にmiR-1とmiR-133の両方を含む一次転写産物を標的として、アンチセンスRNAプローブを作製し、同様の実験を行った。その結果、中期尾芽胚の尾部の筋肉細胞で特異的にシグナルが検出された。シグナルは筋肉細胞の核に限定されており、プロセッシングを受ける前の転写産物を検出していると考えられた。

次世代DNAシーケンサーを用いた解析により、ホヤゲノム上の転写開始部位(TSS)マッピングを行った結果、miR-1/miR-133遺伝子上流のTSSを決定することができた。一方、miR-1配列とmiR-133配列の間のスペーサー部位にも、マイナーなTSSが存在する可能性がみいだされた。そこで、ホヤmiR-1/miR-133の発現制御機構を解析するために、miR-1/miR-133遺伝子の約1 kbの上流領域を蛍光レポーター遺伝子(Kaede)に連結したプラスミドを作製した。この領域には上記の遺伝子上流のTSSは含まれるが、スペーサーのマイナーなTSS候補部位は含まれない。このプラスミドをホヤ胚に導入した結果、胚および幼生の筋肉細胞で特異的に蛍光レポーターの発現が観察され、単離した上流領域に筋肉特異的な発現制御に必要なかつ十分な配列が含まれていることが明らかになった。この領域の塩基配列を近縁種ユウレイボヤ *Ciona savignyi* との間で比較したところ、いくつかの高度に保存された領域が見出され、各保存領域にはbHLH転写因子の結合配列であるE-boxが集中して存在してい

た。この結果から、bHLH転写因子により、ホヤmiR-1/miR-133の筋肉特異的な転写制御が行われていることが示唆された。

日下部らは、光変換による細胞標識が可能で、ホヤの変態過程を通して、細胞系譜を追跡する手法を確立した(Horie *et al.*, *Nature* **469**, 525-528, 2011)。miR-1/miR-133の制御配列によるKaedeの発現は、ホヤ幼生の尾部の筋肉だけでなく、体幹部腹側の細胞群でもみられた。この細胞群がmiR-1/miR-133を発現する成体器官の原基である可能性を検証するために、Kaede発現細胞の追跡を行っている。これまでに、変態直後の心筋がKaedeにより標識されることを確認している。

②神経系特異的miRNA

神経系で特異的に発現するmiRNAの候補として、ゼブラフィッシュおよび哺乳類の発現データをもとに、12の遺伝子を選び、ホヤゲノム中の探索、カタユウレイボヤとユウレイボヤの種間比較を行った。ホヤに存在することが濃厚となったlet-7、miR-7、miR-8、miR-34、miR-124、miR-125、miR-153、miR-183について、LNAプローブを設計し、*in situ* ハイブリダイゼーションとノザン解析を行った。*in situ* ハイブリダイゼーションの結果、miR-124が尾芽胚期から中枢神経系(脳・運動神経節)特異的に発現することが明らかになった。米国のZeller博士らのグループは、我々とは独立にカタユウレイボヤmiR-124の解析を行い、表皮神経細胞など末梢神経系でも発現することを報告している

(The 5th International Tunicate Meeting, 2009)。彼らは、RNAプローブを用いて一次転写産物を検出しており、成熟miR-124が末梢神経で発現しているかどうかは、さらに検討する必要がある。

(3) miRNAの進化保存性と多様性

①miR-1/miR-133

上述の通り、ホヤmiR-1/miR-133は *mib* 遺伝子のイントロン中に存在し、*mib* 遺伝子とは逆向きに転写される。ヒトでも *mib* 遺伝子の同一箇所イントロンにmiR-1/miR-133が逆向きにコードされている。ホヤと同じく脊索動物であるナメクジウオでも、miR-1/miR-133はやはり *mib* のイントロンに存在する。ショウジョウバエやウニでも、miR-1/miR-133と *mib* は同じ染色体の近傍に位置しているが、相対位置は同じではない。このようなmiR-1/miR-133と *mib* 遺伝子の関係の機能的な意義はまったく不明であるが、ホヤとヒトの間で完全に保存されている上に、ホヤでは脊椎動物と違いmiR-1/miR-133がシングルコピーであるので、今後、ホヤを用いた解析で明らかになる

ことが期待される。

一方、ホヤと脊椎動物の相違点も明らかになった。脊椎動物ゲノムには、miR-1/miR-133は複数コピー存在し、一部はmiR-1の代わりにmiR-206と呼ばれるmiRNAに変化している。井上らは、メダカのmiR-1/miR-133遺伝子対は哺乳類と同様3コピー存在し、そのうち一つは*mib*遺伝子のイントロン中に逆向きに位置していることを見いだした。またmiR-1の一つは変異しmiR-206となっていた。さらに、脊椎動物の系統で最初期に分岐した円口類ヤツメウナギにはmiR-206が見つからないことから、脊椎動物の系統でmiR-1/miR-133の段階的な重複と多様化が起きたと推察される(現在投稿準備中)。miR-1/miR-133に関して祖先型の状態を保持していると考えられるホヤの知見は、miR-1/miR-133ファミリーの進化と脊椎動物の形態多様性の関わりを解明するための足がかりとなるであろう。

②メダカで細胞特異的に発現するmiRNA

本研究の過程で、メダカ網膜の錐体細胞で特異的に発現する2つのオブシン遺伝子の上流に、オブシン遺伝子とは逆向きに転写されるmiRNAを新たに発見した。蛍光レポーターを用いた解析の結果、対をなすmiRNAとオブシン遺伝子は同じ錐体細胞で発現することが示され、miRNAによる細胞特異性の制御機構が示唆された。

また、ホヤで解析中のmiR-124(上述)については、井上がメダカやゼブラフィッシュでの機能を解明しつつあり、中枢神経特異的な発現パターンを示すことが分かった。また標的mRNAの制御を介して神経発生過程における選択的スプライシングへの関与が示唆されている。

(4) 小分子機能性RNAの生合成・作用機序に関わるタンパク質ファミリーの解析

小分子RNAの生合成および機能発現には、*dicer*、*piwi/argonaute*、*drosha*などのタンパク質ファミリーが関与することが知られている。ホヤにおける小分子RNAの役割を理解する手がかりを得ることを目的として、小分子機能性RNAの生合成・作用機序に関わるタンパク質をコードする遺伝子の解析を行った。

ホヤゲノム中には*dicer*ファミリーが1つ(Ci-*dicer*)、*piwi/argonaute*ファミリーが3つ(Ci-*piwi-like-1*、Ci-*piwi-like-2*、Ci-*elF2C*)、*drosha*ファミリーが1つ(Ci-*drosha*)存在することをみいだした。これらの発現パターンを*in situ*ハイブリダイゼーションにより解析し、発生過程においてそれぞれ特徴的な発現パターンを示すことをみいだした。特に、Ci-*piwi-like1*は脳胞の一部と尾部の始原生殖細胞様の細胞で特異的に発現することを

みいだした。Ci-*piwi-like1*の発現する細胞を同定するために、Ci-*piwi-like1*の発現制御領域を単離して蛍光レポーター遺伝子(Kaede)に連結し、発現部位の詳細な解析を行った。Piwiは脊椎動物や昆虫の生殖細胞の形成に重要であることが知られているが、ホヤにおいては中枢神経系の特定の細胞群の発生に関与している可能性が示唆された。日下部らの最近の研究により、ホヤ幼生の中枢神経系を構成する上衣細胞が、成体の中枢神経系を作るための幹細胞様の働きをもつことが明らかにされた(Horie *et al.*, *Nature* **469**, 525-528, 2011)。Ci-*piwi-like1*を発現する細胞が、成体神経の前駆細胞である可能性を検証するために、Kaedeを用いた細胞追跡を行った結果、すくなくとも一部の細胞は、予想通り成体の中枢神経系の形成に寄与することが示された。

Dicer (Ci-*dicer*)とPiwi (Ci-*piwi-like1*)については、アンチセンスモルフォリノオリゴを用いたノックダウン実験により、ホヤ胚発生過程および幼生における機能の解析を行った。Dicerをノックダウンすると、卵割期の間は正常に発生するが、初期のう胚期(110細胞期)以降に形態形成が異常になるという結果が得られた。現在、Dicerノックダウンの表現型の詳細な解析を行っている。一方、Piwiについては、いまのところノックダウンによる顕著な異常は認められない。ノックダウン効率や、Ci-*piwi-like2*の存在による機能的冗長性、変態期以後に機能が発揮される可能性などを検討中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計7件)

- (1) Takeo Horie, Ryoko Shinki, Yosuke Ogura, Takehiro G. Kusakabe, Nori Satoh, and Yasunori Sasakura (2011) Ependymal cells of chordate larvae are stem-like cells that form the adult nervous system. *Nature* **469** (7331), 525-528.
- (2) Tani, S., Kusakabe, R., Naruse, K., Sakamoto, H., & Inoue, K. (2010) Genomic organization and embryonic expression of miR-430 in medaka (*Oryzias latipes*): insights into the post-transcriptional gene regulation in early development. *Gene* **449**, 41-49.
- (3) P. Khare, S. I. Mortimer, C. L. Cleto, K. Okamura, Y. Suzuki, T. Kusakabe, K. Nakai, T. H. Meedel, and K. E. M. Hastings: Cross-validated methods for promoter/transcription start site mapping in SL trans-spliced genes, established using the *Ciona intestinalis* troponin I gene. *Nucleic Acids Res.* **39**

- (7), 2638-2648(2011).
- (4) Olivier Tassy, Delphine Dauga, Fabrice Daian, Daniel Sobral, François Robin, Pierre Khoueir, David Salgado, Vanessa Fox, Danièle Caillol, Renaud Schiappa, Baptiste Laporte, Anne Rios, Guillaume Luxardi, Takehiro Kusakabe, Jean-Stéphane Joly, Sébastien Darras, Lionel Christiaen, Magali Contensin, Hélène Auger, Clément Lamy, Clare Hudson, Ute Rothbacher, Michael J. Gilchrist, Kazuhiro W. Makabe, Kohji Hotta, Shigeki Fujiwara, Nori Satoh, Yutaka Satou, and Patrick Lemaire (2010) The ANISEED database: Digital representation, formalization, and elucidation of a chordate developmental program. *Genome Res.* **20** (10), 1459-1468.
- (5) Kohji Okamura, Kazuaki A. Matsumoto, and Kenta Nakai, Gradual transition from mosaic to global DNA methylation patterns during deuterostome evolution, *BMC Bioinformatics*, **11**(Suppl 7), S2 (15 October 2010).
- (6) Takeda, Y., Mishima, Y., Fujiwara, T., Sakamoto, H., & Inoue, K. (2009) DAZL relieves miRNA-mediated repression of germline mRNAs by controlling poly(A) tail length in zebrafish. *PLoS ONE* **4**, e7513
- (7) Hayashida, Y., Nishibu, T., Inoue, K., & Kurokawa, T. (2009) A useful approach to total analysis of RISC-associated RNA. *BMC Research Notes* **2**, 169.

[学会発表] (計 18 件)

- (1) Kenta Nakai, Sequence analyses of genetic and epigenetic information for transcriptional regulation, The 9th Asia Pacific Bioinformatics Conference (APBC2011), 2011 年 1 月 11-14 日, 仁川、韓国 (keynote speech)
- (2) Kunio Inoue, Control of germline/somatic cell distinction by miRNA function in zebrafish, A satellite symposium on Germ Cells in SDB-JSDB Joint Meeting 2010, 2010.8.5, New Mexico, USA
- (3) T. Kusakabe, A. Ichinose, Y. Miyamoto, Y. Terashima, K. Shimai, K. Nishitsuji, M. Shiraekurabayashi, A. Nakamura, R. Kusakabe, K. Nakai, and K. Inoue, Gene expression patterns and possible developmental roles of protein families involved in biogenesis and

functions of small noncoding RNAs in *Ciona intestinalis*, 2nd Joint Meeting Of The SFBD and JSDB 2010 - From Cells to Organs, May 26 - 28, 2010, Institut Pasteur - Paris (France)

- (4) 一瀬葵、宮本由紀、寺嶋泰子、島井光太郎、西辻光希、白江-倉林麻貴、中村輝、日下部りえ、中井謙太、井上邦夫、日下部岳広, Gene expression and possible roles of protein families involved in biogenesis and functions of small RNAs in the nervous system of the ascidian *Ciona intestinalis* (SW2-04; P-094), 日本発生物学会第 43 回大会、2010 年 6 月 20 日~23 日, 国立京都国際会館 (ポスター)、芝蘭会館 (サテライトワークショップ)
- (5) 大道裕, 日下部岳広, メダカ錐体オープン遺伝子と転写調節領域を共有する miRNA 遺伝子 (1E1345): 日本動物学会第 81 回東京大会、東京大学教養学部 (駒場キャンパス)、2010 年 9 月 23 日、口演発表
- (6) 島井光太郎, 一瀬葵, 宮本由紀, 寺嶋泰子, 西辻光希, 白江-倉林麻貴, 中村輝, 日下部りえ, 中井謙太, 井上邦夫, 日下部岳広, カタユウレイボヤ脳胞における piwi の新奇機能の解析 (1H1700): 日本動物学会第 81 回東京大会、東京大学教養学部 (駒場キャンパス)、2010 年 9 月 23 日、口演発表

6. 研究組織

(1)研究代表者

中井 謙太 (NAKAI KENTA)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号: 60217643

(2)研究分担者

日下部 岳広 (KUSAKABE TAKEHIRO)

甲南大学・理工学部・教授

研究者番号: 40280862

井上 邦夫 (INOUE KUNIO)

神戸大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 40252415

(3)連携研究者

鈴木 穰 (SUZUKI YUTAKA)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号: 40323646

岡村 浩司

お茶の水女子大学・生命報学教育研究センター・特任講師

研究者番号: 80456194