

【目的】「生命のセントラルドグマ」である DNA から適宜必要な遺伝子を RNA へと転写し、機能発現体であるタンパク質を産生する遺伝子発現の流れにおいては、各段階において多彩な発現調節機構が働くことにより、適切な遺伝子発現が維持される。この調節機構の1つに、遺伝子情報そのものである DNA と RNA の [A、G、C、T (U)] 4 種の塩基の化学構造を修飾する機構が備わっている。我々は、これまで二本鎖 RNA のみを基質とすると考えられていたアデノシンを脱アミノ化してイノシンへと修飾 (A-to-I 脱アミノ化編集、図 A) する酵素である ADAR (Adenosine Deaminase Acting on double-stranded RNA) が、RNA : DNA ハイブリッド鎖をも基質として RNA のみならず DNA のアデノシンをも脱アミノ化編集することを発見した (図 B)。これは哺乳動物細胞内在性として初の RNA がガイドするゲノム配列編集機構と考えられる。本研究では、この仮説の検証による哺乳動物細胞内在機構として初の、RNA がガイドするゲノム配列編集機構となる、DNA : RNA ハイブリッド鎖を基質とした DNA のアデニン塩基脱アミノ化編集の分子機構と生物学的意義の解明と、遺伝子工学への応用利用、検出技術の開発を目的として実施した (図 C)。

【方法と結果】 本研究では、まず ADAR 発現抑制時の細胞動態の解析を行い、ADAR の発現抑制が DNA 損傷・細胞周期停止・細胞死を誘導することを見出し、ADAR が DNA 損傷抑制/修復促進に関与することを明らかにした。さらに ADAR 発現抑制及び ADAR 遺伝子再導入による RNA : DNA ハイブリッド鎖量の変動解析により、ADAR 発現抑制時に 3 倍以上増加することの再現性を確認した。続いて、本機構を利用して人工ガイド RNA の導入によるゲノム DNA 脱アミノ化編集によるゲノム編集法開発に取り組み、厳密に A-to-I DNA 編集部位を規定可能な設計規則を見出した。最後に、既存手法では難しい、超微量細胞内 DNA 鎖におけるイノシン部位の同定を目指し、核酸鎖内のイノシン部位に対する特異的標識法の開発に成功した。以上、機構の解明・利用技術の開発・同定技術の開発により、さらに新たな意義の解明が期待できる。

哺乳類内在性 RNA 依存的 DNA 鎖 A-to-I 脱アミノ化機構

