



TOHOKU
UNIVERSITY

平成 29 年 2 月 6 日

報道機関 各位

東北大学大学院生命科学研究科

二本鎖 DNA 末端に対する強い塩基付加活性の発見 逆転写酵素の知られざる横顔

【研究のポイント】

- ・マウス白血病ウイルス由来の逆転写酵素が、平滑 DNA 末端に対して、従来知られていた酵素よりも非常に強い塩基付加活性を有していることを発見。
- ・今回発見した塩基付加活性はアデニン (A)、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T) いずれの塩基についても 1 から 4 塩基程度を付加できます。
- ・今後 DNA 操作基礎技術の 1 つとして、環境・化石由来の微量 DNA の解析や、シングルセル解析などの方面での活用されることが期待されます。

【研究概要】

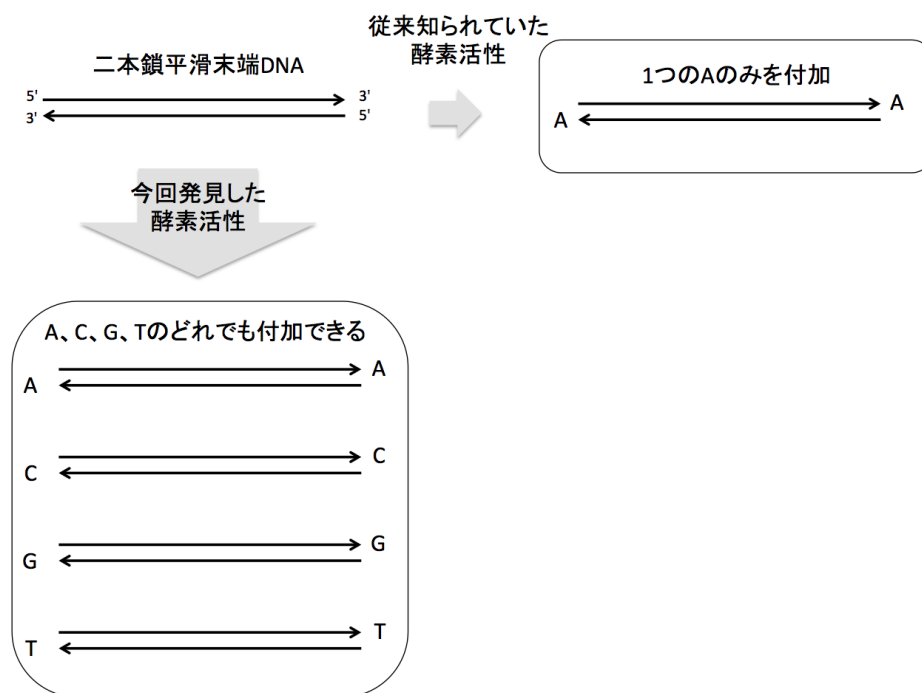
DNA 合成酵素のうちあるものは平滑 DNA の 3'端に、鋳型配列非依存的に塩基を付加することで、3'突出を形成することが知られています(図)。これまでに知られていたこのような活性を有する酵素は、いずれも A を付加する活性のみが強く、付加できる A の数も 1 つだけでした。東北大学大学院生命科学研究科の大坪嘉行准教授、永田裕二教授、津田雅孝教授らの研究グループは、逆転写に広く使用されているマウス白血病ウイルス由来の逆転写酵素*¹が、平滑 DNA 末端*²に対して A、C、G、T のいずれも 1 から 4 個付加可能な非常に強い活性を有していることを見出しました。70 塩基から 1,120 塩基の異なる長さの 6 種類の平滑 DNA 断片に対して G の付加反応を行った後、1 から 4 個の C を 3'端から突出させた DNA 断片とライゲーション反応*³を行ったところ 91 から 97% の高い効率で連結させることができました。

DNA 同士の連結は、DNA 操作上の基礎技術の 1 つです。本研究成果は、DNA の連結効率を高める上で重要であり、環境あるいは化石由来の微量 DNA の解析や、シングルセル解析などの方面での利用が期待されます。また、これまでの解析技術は、期待通りに反応が進んだもののみ解析して全体を推測するサンプリング調査的手法でした。今後さらに連結効率を高めることができれば DNA サンプル中の DNA 分子の全数調査が可能になると考えられます。本研究成果はサンプリング調査から全数調査へのブレークスルー技術の一端となることが期待さ

れます。

この研究成果は2月2日付で **Scientific Reports** 誌に掲載されました。本研究は、文部科学省科学研究費補助金および発酵研究所の研究助成を受けて行われました。

【図】



DNAの3'端にA、C、G、またはTをおおよそ1から4個付加できる。実際に付く数は反応時間やDNA濃度などによって異なる。

【用語説明】

- * 1 逆転写酵素：RNAの遺伝情報をDNAに転写する働きを持ち、RNA鎖を鋳型にして相補的なDNA鎖を合成する酵素。本研究では、二本鎖DNAの末端に塩基を付加する強い活性をも有することを見出しました。
- * 2 平滑DNA末端：2本鎖DNAを構成するDNA鎖の両方が突出していない末端構造。(図参照)
- * 3 ライゲーション反応：DNA鎖の末端同士を連結する反応。

【研究手法】

本研究の実施にあたり、キャピラリーシーケンサーにより得られたデータを解析するソフトウェア **TraceViewer** を作成しました。蛍光ラベルされたDNAの長さの変化を、簡便に解析することができます。

【論文題目】

題目 : Efficient N-tailing of blunt DNA ends by Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase

著者 : Yoshiyuki Ohtsubo, Yuji Nagata, and Masataka Tsuda

雑誌 : Scientific Reports

DOI : 10.1038/srep41769

お問い合わせ先

(研究に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科

担当 大坪嘉行 (おおつぼよしゆき)

電話番号 : 022-217-5696

E メール : yohtsubo@ige.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院生命科学研究科広報室

担当 高橋さやか (たかはしさやか)

電話番号 : 022-217-6193

E メール : lifsci-pr@grp.tohoku.ac.jp