

令和元年 11 月 7 日

報道機関 各位

東北大学大学院生命科学研究科

ちぎれた DNA の末端と修復方法 誤解されてきた DNA の末端形状

【発表のポイント】

1. DNA は重要な解析対象。物理的に切れた DNA の末端を、修復してから解析することが広く行われている。
2. 物理的に切れた DNA の末端がどうなっているかは長い間誤解されてきたことが分かった。
3. 本研究では、従来の説が間違えていることを示し、効率的に修復する新しい方法を生み出した。
4. DNA という重要な研究対象についての誤解を解き、正しい理解をもたらした。
5. DNA 解析技術の基礎となる重要な知見である。

【概要】

これまで物理的に DNA が切れたときに生じる 3'末端には、水酸基が存在すると信じられてきました。東北大学大学院生命科学研究科の大坪嘉行准教授らのグループは、この構造は少数派であり、それ以外に様々な構造があることを見いだしました。さらに、様々な構造の末端を、通常酵素が作用できるような通常末端構造へと修復する新しい方法を考案しました。本研究は、重要な研究対象である DNA についての長い間の誤解を解いて正しい理解を導き、ひいては効率的な DNA の取り扱いを可能にするものです。

本研究結果は、(11 月 8 日の) Communications Biology 誌 (Nature Publishing Group) に掲載されます。

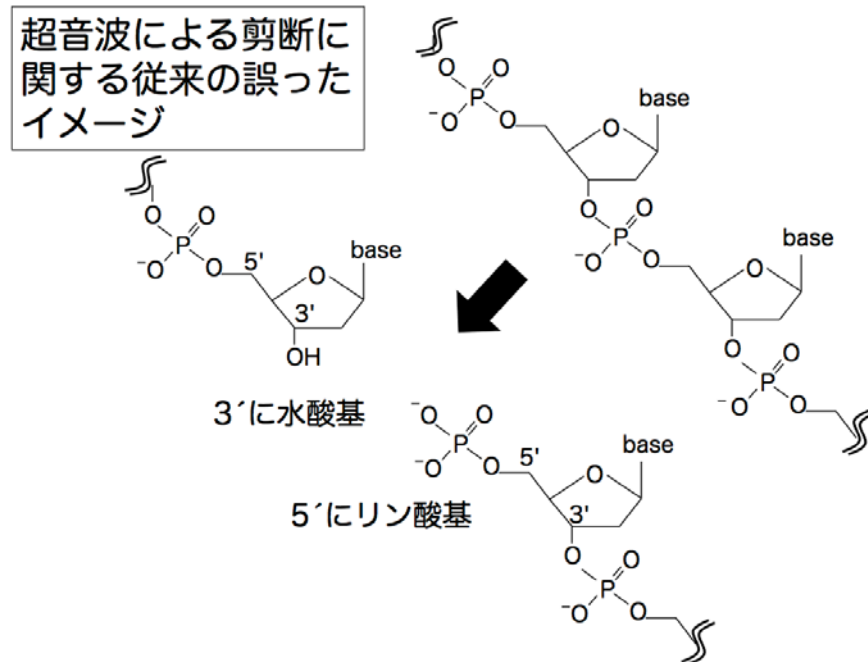
【詳細な説明】

超音波等を用いて DNA を物理的に切断した場合、生じたほとんどの 3'末端には水酸基が存在すると誤って信じられてきました(図 1)。3'末端の水酸基は、DNA の取り扱いを可能にする各種の酵素が作用する上で必須です。研究グループは、超音波によって切断された DNA について、各種の酵素を用いて反応特性を調べることで、水酸基末端はおよそ 20%程度でしかないこと、半分程度はリン酸基末端であること、さらに未同定の末端形状も 30%程度あることを見いだしました。またこれら様々な形状の末端を水酸基末端に変換する新しい方法を考案しました。この方法は、様々な形状の 3'末端から DNA を削り取る活性を持つ酵素と、DNA を合成する活性を持つ酵素の活性を釣り合わせる SB 法(Scrap-and-Build 法)です(図 2)。SB 法では、ほとんど 100%の効率で 3'水酸基末端へと変換することができ、効率的な解析が可能になります。

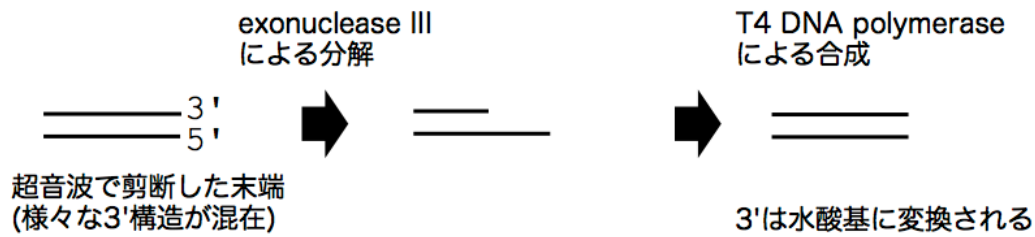
DNA についての正しい理解は、基礎学問的に重要であるだけでなく、DNA を効率的に取り扱う技術の基礎として重要です。

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研究助成の支援を受けて行われました。

【図】



【図 1】 これまで超音波で DNA を切断した場合、3'末端は OH 基であるとされてきた。これは正しくなく、実際はリン酸基や未同定の構造が 80%程度を占めている。簡略化のため DNA 鎖の片側のみ描いている。



【図 2】SB 法による末端修復 exonuclease III と T4 DNA polymerase を同時に作用させる。exonuclease III は末端の構造によらず DNA 鎖を 3'から削り 3'水酸基末端を形成する。T4 DNA polymerase は、3'が陥没した水酸基末端から DNA を合成する。T4 DNA polymerase は exonuclease III による完全分解を防ぐ役割を果たす。これら反応によって 3'末端は水酸基へと修復される。

【研究手法】

本研究でなされたような DNA の解析には変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動という手法で解析するのが一般的ですが、これは手間暇と熟練が必要で効率が悪い方法です。本研究では、キャピラリーシーケンサーを用いてデータを取得し、得られたデータを TraceViewer と名付けた自作ソフトウェアにより、効率良く解析を行いました。

【論文題目】

題目: Properties and efficient scrap-and-build repairing of mechanically sheared 3' DNA ends

著者: Yoshiyuki Ohtsubo, Keiichiro Sakai, Yuji Nagata, Masataka Tsuda

雑誌: Communications Biology

DOI: 10.1038/s42003-019-0660-7

【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