平成31年度 ほくぎん若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名	助成金額
松村 茂祥	富山大学 学術研究部 理学系・講師	850,000 円

研究課題名	原始細胞は RNA ワールドをどこまで飛躍させるか？
研究の概要	生命の起源において、機能性 RNA がいかに進化しえたのかは、非常に重要かつ未解決の問題である。本研究では、マイクロ流路デバイスにより微小液滴を操作する技術を用いて RNA の実験進化を行い、この問題に取り組む。具体的には、RNA 切断リボザイムである VS リボザイムに人為的に変異を導入し、液滴マイクロ流体システムを用いて実験進化を行い、細胞サイズの微小液滴の中で RNA の機能がどのように進化するのかを検証する。本研究により、「進化可能性」の議論をこれまでの「分子レベル」から「集団レベル」へと飛躍させることを目指す。
研究の成果	まず、変異誘発 PCR を用いて VS リボザイム遺伝子に変異を導入し、ランダム化ライブラリーを作製した。次いで、マイクロ流体システムにより遺伝子を一つずつ微小液滴に封入し、リボザイム活性の評価・選別を行った。この過程を 4 ラウンド行った結果、活性の濃縮が確認されたため、ライブラリのサブクローニングを行い、40 種のクローンの配列を解析した。その中には野生型の配列は見られず、実験進化の成功が示唆されたため、14 種を選び、活性測定を行った。そのうち 1 種は、野生型のリボザイムを超える活性を示した。このことは、本研究で開発した手法が想定通りに機能し、リボザイム活性の実験的進化に有効であることを示している。現在、得られたライブラリーを次世代シーケンサーで解析するとともに、リボザイムのさらなる機能向上を目指して、より厳しい条件で追加の進化実験を行っている。
研究成果発表状況	微小液滴スクリーニングによる機能性 RNA の実験進化 荏原 基力、井川 善也、松村 茂祥 第 13 回バイオ関連化学シンポジウム（2019 年 9 月 4～6 日） 微小液滴ハイスループットスクリーニングによるターンオーバー型リボザイムの実験進化 荏原 基力、井川 善也、松村 茂祥 第 42 回日本分子生物学会年会（2019 年 12 月 3～6 日）

経費の執行状況

区分	執行額（円）	備考
物品	710,020	合成 DNA、RNA 増幅キット 等
旅費	131,980	バイオ関連化学シンポジウム
その他	8,000	学会参加費