

29F-am09

T7 RNA ポリメラーゼによる修飾トリリン酸体の取り込みに関する研究

○柏木 怜¹, 佐藤 浩輔¹, 松田 彰¹(¹北大院薬)

【目的】 これまでに DNA ポリメラーゼはその基質特異性や DNA 二本鎖のグルーヴ認識性が明らかにされている。それに対し、RNA ポリメラーゼについてはそのような研究はほとんど行われておらず、化学修飾核酸塩基の取り込みについての報告例も数少ない。そこで、本研究では UTP のマイナーグルーヴ側の修飾アナログである 2-thioUTP を用いて T7 RNA ポリメラーゼのグルーヴ認識性を検証し、このような化学修飾核酸塩基を含む RNA を合成することが可能であるかどうかを調べることにした。

【方法・結果】 2-thioUTP および α -³²P CTP を用いて T7 RNA ポリメラーゼによる転写を行い、得られた転写産物をポリアクリルアミドゲルにより分析することで RNA 合成が一部途中で停止していることを確認した。この転写が途中で停止した RNA および完全鎖長 RNA を RNaseT₂ により 3'-モノリン酸体へと分解し 2 次元 TLC により解析することで、RNA 中に含まれる ³²P ラベルされた 3'-モノリン酸体の塩基組成を算出した。発表では他の修飾核酸塩基トリリン酸体の RNA 中への取り込みについても報告する。

