

28R-pm10S

塩基・部位特異的 RNA 化学修飾能を持つ官能基転移核酸による遺伝情報制御法の開発

○大城 郁也¹, 實崎 大地¹, 松本 卓也¹, 谷口 陽祐¹, 佐々木 茂貴¹ (¹九大院薬)

【目的】RNA 中の塩基及び部位特異的な化学修飾法は、生化学的ツールや遺伝子治療への展開が可能である。当研究室では、標的 RNA との二本鎖形成を引き金に、RNA を塩基・部位特異的に官能基で修飾しうる官能基転移核酸の開発を行っている¹⁾。これまでに、金属錯体形成により反応性が誘起されるピリジンケトン型転移基を用い、生理的条件下で安定かつ高効率な修飾反応の開発に成功した。チオチミン、チオグアニンを基本骨格として用いることにより、それぞれアデニン及びシトシン選択的な修飾反応に成功している (Fig.1)^{2,3)}。本研究ではこの反応を展開し、mRNA 中の化学修飾を定量的に評価し、翻訳に及ぼす効果を検討することとした。

【方法・結果】Luciferase mRNA を標的としてピリジンケトン型転移基を用い、中性条件、遷移金属カチオン共存下で転移反応を検討した。化学修飾による mRNA の検出は困難なため、RNase H を用いて位置選択的 mRNA 切断を行い、修飾 RNA を有する部位を断片化し、ゲル電気泳動の移動度から反応部位及び反応収率を算出する方法を開発した (Fig.2)。

さらに、修飾位置を特定した mRNA を用いて *in vitro* translation を行い、mRNA のシトシン及びアデニンに対する部位特定の修飾への影響を検討した。これら結果について報告する。

Fig. 1

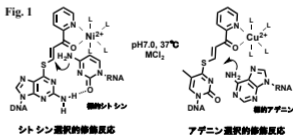


Fig. 2



1) Onizuka, K., et al., *Bioconjugate Chem.*, **2009**, *20*, 799-803. 2) Jitsuzaki, D., et al., *Nucleic Acids Res.*, **2014**, *42*, 8808-15. 3) Oshiro, I., et al., *ChemBioChem.*, **2015**, *16*, 1199-1204.