



TOHOKU
UNIVERSITY

平成28年8月4日

報道機関 各位

東北大学大学院理学研究科

RNA 二重鎖を可視化する新技術を開発！ 生命現象、疾患、ウイルス感染の解明へ

【概要】

東北大学大学院理学研究科化学専攻・西澤精一教授のグループは、リボ核酸(RNA)の二重鎖構造に結合する蛍光分子(プローブ)を新たに開発し、RNA 二重鎖の塩基配列を可視化することのできる技術を世界で初めて開発しました。この技術は、ウイルス感染や疾患の解明に繋がる技術基盤となることが期待されます。

本研究では、蛍光色素を導入したペプチド核酸(PNA)^{注1)}プローブが RNA 二重鎖と塩基配列選択的に結合し、三重鎖構造^{注2)}を形成すると色素部分が強く光ることを見出しました。RNA は細胞内で複雑な構造を形成することで、代謝物やタンパク質と反応し、多彩な機能を発現することが知られています。そのため、その構造の基礎となる RNA 二重鎖を精密に解析する技術は生命現象や疾患を解明するために必要不可欠なものです。これまでの分析手法は RNA 一本鎖構造に対してのみ有効だったのに対し、本研究で開発した蛍光プローブを用いることにより、RNA 二重鎖の構造と配列情報を解析することが可能となりました。

これらの研究結果は、様々な生命現象、疾患、ウイルス感染と関与する RNA 高次構造の機能を解析するための革新的な技術基盤になるものと期待できます。

【研究の背景】

デオキシリボ核酸(DNA)から転写されたRNAは、タンパク質へ翻訳される遺伝子情報の中間体として、またタンパク質に翻訳されることなくRNAのまま様々な遺伝子発現を調節するレギュレータとして、重要な役割を担っています。したがってRNAを検出するプローブは、RNAの構造や機能を調べる上で、有用な分析ツールとなります。転写された直後のRNAは一本鎖状態ですが、分子間・分子内でアデニン(A)-ウラシル(U)、グアニン(G)-シトシン(C)のワトソン・クリック塩基対を形成し、エネルギー的に安定な二重鎖構造をとります。さらには二重鎖構造を含む複雑な高次構造を形成するRNAも存在します。このようなRNA構造はその機能を発現するための鍵であることが分かっており、RNA構造を解析する分析手法はRNA機能を本質的に理解するために重要です。

しかし、従来のRNA解析プローブはRNAの一本鎖構造を狙ったものであるため、二重鎖構造に対しては結合できない、すなわち検出できないという限界がありました。

【研究手法】

本研究では RNA の二重鎖構造を直接認識し、かつその配列情報までを読み取ることできる、画期的なプローブを設計しました。具体的には、RNA 二重鎖の溝に結合し、三重鎖を形成するペプチド核酸(PNA)をベースとした骨格に、蛍光色素のチアゾールオレンジ(TO)を塩基の代わりに導入したプローブを開発しました(図1)。PNAはRNA二重鎖内の塩基対に対して、溝方向からフーグスティーン塩基対を形成しながら結合するため、正確に塩基配列情報を読み取ることができます。

【研究成果】

プローブと標的RNA二重鎖を混合すると速やかに(〜3分)三重鎖が形成されます(図1)。プローブ内のTO部位が三重鎖形成に伴う環境の変化にตอบสนองし、その蛍光強度が最大で470倍以上増大することを見出しました。これは色素を1つ有するRNA検出プローブとしては世界最高レベルの輝度です。プローブの蛍光応答はRNAと混ぜた直後から観測されるため、蛍光強度を追跡することで結合反応をリアルタイムに解析できます。さらに、プローブはDNA二重鎖に対しては結合が弱く蛍光応答も小さくなるため、RNA二重鎖を選択的に解析することが可能です。

【今後の展開】

本研究で開発したプローブは、標的となるRNA二重鎖の塩基配列情報に応じて設計できるため、今後多様なRNAを標的とすることが可能になると期待されます。現在は本プローブを活用し、細胞内のRNA二重鎖の可視化(イメージング)への展開を目指しています。

細胞内RNA構造解析への展開が達成できれば、RNA構造が果たす機能をより深く理解することにつながるだけでなく、新たなRNA構造や生命現象・疾患などの発見にもつながるものと期待できます。

【用語解説】

注1) ペプチド核酸(PNA)

天然核酸(DNAやRNA)の糖-リン酸骨格をアミド結合に置き換えた人工核酸の一種。

注2) 三重鎖構造

核酸二重鎖(ここではRNA)へさらに核酸一本鎖(ここではPNA)が巻き付いて形成する超分子構造。PNAのチミン(T)、シトシン(C)塩基が、RNA二重鎖内のA-U、G-C塩基対とそれぞれ水素結合をすることで形成する。この時形成される塩基対は、ワトソン・クリック塩基対とは水素結合パターンが異なるため、フーグスティーン塩基対と呼ばれ区別されます。

【論文情報】

雑誌名: Journal of the American Chemical Society

論文タイトル: Triplex-forming Peptide Nucleic Acid Probe Having Thiazole Orange as a Base Surrogate for Fluorescence Sensing of Double-stranded RNA

著者名: Takaya Sato, Yusuke Sato and Seiichi Nishizawa

DOI: 10.1021/jacs.6b05554

【参考図】

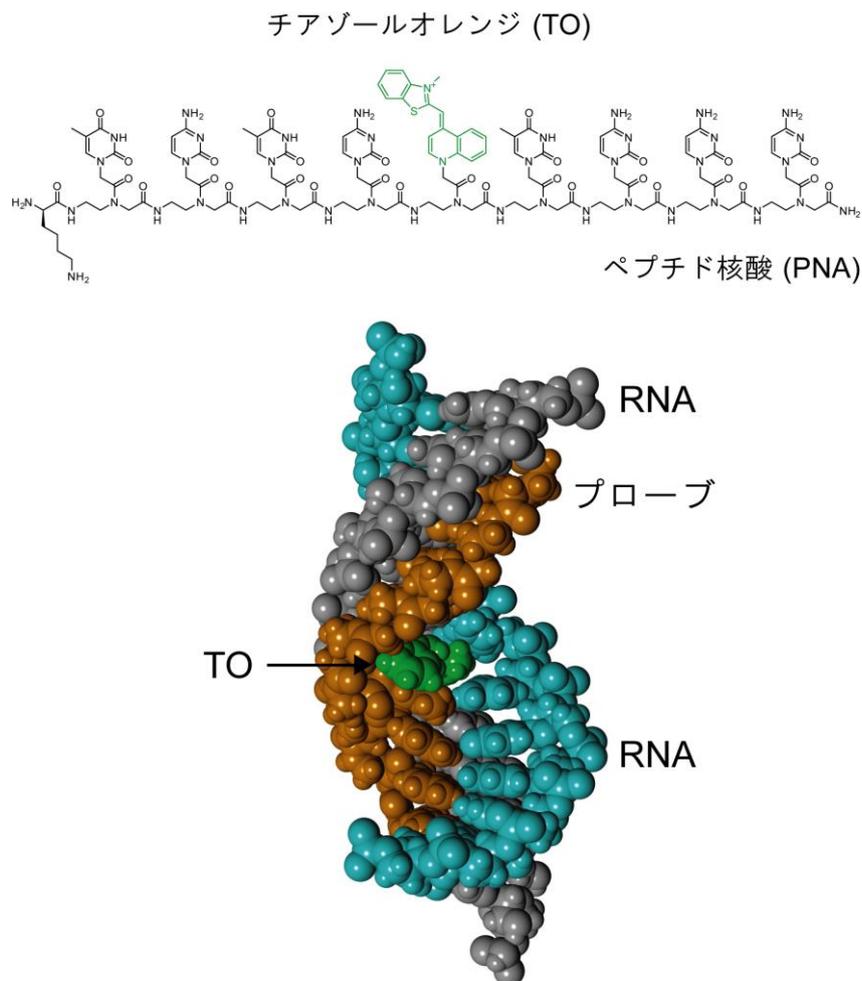


図 1 : プローブ構造と、予想される三重鎖構造。プローブの PNA 部分をオレンジ、TO 部分を緑、RNA を青と灰色でそれぞれ示した。

問い合わせ先

<研究に関すること>

東北大学大学院理学研究科

化学専攻 分析化学研究室

助教 佐藤 雄介 (さとう ゆうすけ)

電話 : 022-795-6551

E-mail : satoyuu@m.tohoku.ac.jp

<報道に関すること>

東北大学大学院理学研究科

特任助教 高橋 亮 (たかはし りょう)

電話 : 022-795-5572、022-795-6708

E-mail : sci-pr@mail.sci.tohoku.ac.jp