

解説: ジアジリン型光反応性残基を導入したタンパク質捕捉能を有する新規 siRNA プローブの創製

<研究の背景>

21 塩基程度の小さな RNA である small interfering RNA (siRNA) は、RNA 干渉をひきおこすことにより、原理上あらゆる遺伝子のはたらきを抑制できるため、がんやウイルス感染など様々な疾患に対する新しい治療薬として、現在世界中で精力的な開発が進められています。しかしながら、細胞内において siRNA が実際どのようなしくみで RNA 干渉をもたらしているのかについては、未解明の部分が多く残されており、siRNA を利用した医薬品開発における障害の一つとなっています。また、天然型の RNA は、投与した際に細胞内でヌクレアーゼにより容易に分解されてしまうため、siRNA を治療薬として用いるには、siRNA 分子の一部を変化させる(化学的に修飾する)などして安定性を高める必要があります。これまでに、上野准教授らは siRNA を芳香族環で修飾することにより siRNA の安定性を高めることに成功していました。

<研究の内容>

siRNA は単独で働くわけではなく、いくつかのタンパク質と複合体を作って、はじめて機能します。このような複合体の構成成分としては、中核となる Argonaute (Ago) タンパク質などいくつか報告されているものの、まだ発見されていないものも数多く存在すると考えられています。今回上野・泊准教授らは、芳香族環修飾型の siRNA にアリルジアジリン型の光反応性残基を導入することで、紫外線の照射に反応して結合タンパク質と特異的にクロスリンク(架橋)し捕捉する能力を有する siRNA を設計し、RNA 干渉関連タンパク質のプロープとして利用することを試みました。その結果、RNA 干渉による標的遺伝子の抑制作用はそこなわれることなく、Ago タンパク質を含め、siRNA のはたらきに必須な役割を果たしている多くのタンパク質を、超高感度で検出することに成功しました。

従来の光反応性 siRNA プロープの場合、RNA やタンパク質などの生体分子に対するダメージが大きい短波～中波長紫外線を照射する必要があり、またそのクロスリンク効率もあまり高くありませんでした。しかし、今回合成に成功したアリルジアジリン型 siRNA プロープでは、長波長紫外線の照射により極めて高い効率でクロスリンクを誘導できるため、生体分子に対するダメージを最小限にとどめることが可能となります。これまで広く使われてきた 5-ヨードウラシル型の光反応性 siRNA プロープと比較し、アリルジアジリン型 siRNA プロープでは、中波長紫外線照射で最大 7 倍、長波長紫外線照射では最大 100 倍という超高感度で、siRNA に結合するタンパク質を検出することができました。

<今後の展開>

以上の様に、今回新しく合成された siRNA は、RNA 干渉関連タンパク質の検出プロープとして極めて優れた特性を持つことが確認されました。本 siRNA は今後、様々な生物種における RNA 干渉の詳しいしくみを明らかにする上で有用なツールになると同時に、RNA 干渉のメカニズムの解析により、siRNA を用いた治療法の改善にも貢献できることが期待されます。

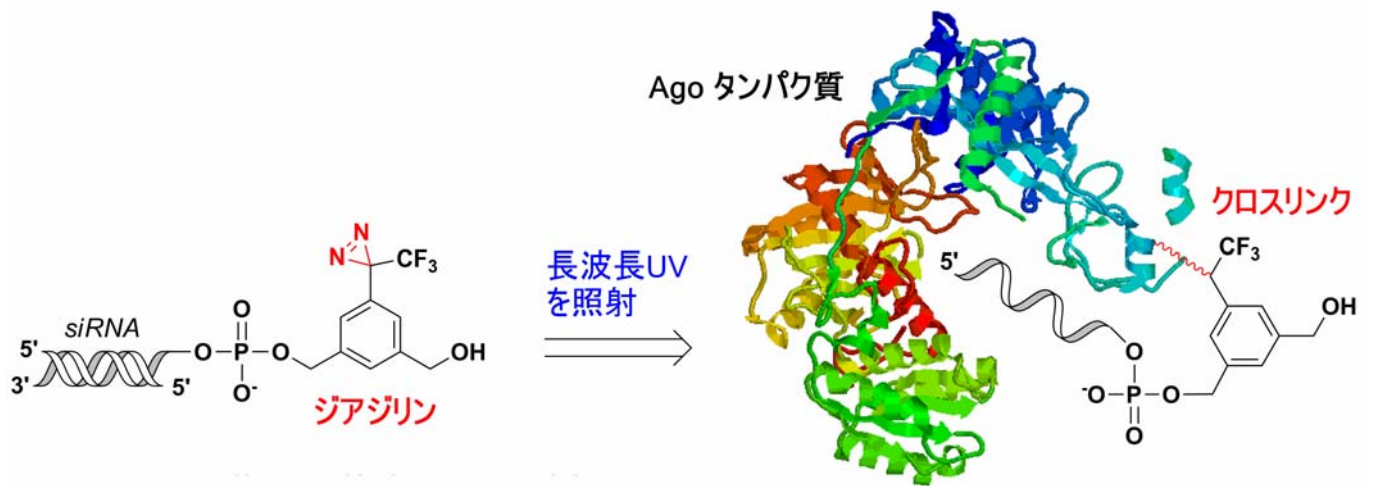


図 アリルジアジリン型の光反応性残基を導入した siRNA による結合タンパク質の捕捉

ジアジリニル基をもつ siRNA に 350–380nm の長波長紫外線を照射すると活性種であるカルベンを生じる。発生したカルベンは炭素-水素間結合への挿入を含め、多くの官能基と反応することが出来る。