

生命と化学

2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

山上 龍太

愛媛大学 大学院理工学研究科
助教

細胞内で機能する新規核酸触媒の開発

§ 1. 研究成果の概要

近年の mRNA ワクチンの例にあるように、核酸医薬品は、様々な病気に対して有効に作用する可能性を秘めている。よって、核酸医薬品を開発するための基盤的技術を構築することは、健康長寿の観点から、喫緊の課題となっている。この課題を解決するために、本研究では、細胞内で機能的に働く核酸触媒を開発することを目標としている。本目標を達成するために、次の 3 つのプロジェクトを遂行している。すなわち、(A) 高機能核酸触媒の最適化、(B) 細胞内における核酸触媒発現系の構築、(C) 新機能を持った核酸触媒の創出、である。以下に2021年度の研究から得られた成果を記載する。

(A) 高機能核酸触媒の最適化

メチル基転移リボザイム(Methyltransferase ribozyme; MTR)は、近年ドイツのグループによって開発された核酸触媒で、RNA 中に 1-メチルアデノシン(m^1A)を合成する。しかしながら、その生化学的性質は、明らかではない。そこで、本プロジェクトでは、MTR のハイスループット解析系を構築し、MTR の生化学的性質を短時間かつ高精度に理解し、さらに高機能な MTR の選抜方法論の確立を試みている。2021年度は、MTR の反応条件を細かく検討し、MTR のメチル基転移反応を初速度の範囲で解析できる条件と pH を探索した。また、MTR の触媒ドメインにおける一塩基置換体を作成し、次世代シーケンサーで網羅解析する方法を確立した。本方法を用いて、触媒ドメインのどのヌクレオチドがメチル基転移反応に関与しているかを推定した。

(B) 細胞内における核酸触媒発現系の構築

本プロジェクトでは、MTR を細胞内で発現するシステムの構築を試みている。2021年度は、酵母内で MTR を発現させるためのプラスミドベクターの構築を行なった。現在、実際に MTR を酵母内に導入し、安定的に MTR が細胞内で存在し、機能するかを検討している。

(C) 新機能を持った核酸触媒の開発

本プロジェクトでは、試験管内進化法を用いて、既存の MTR の機能拡張を試みている。すなわち、 m^1A 以外の他のメチル化ヌクレオチドを合成する MTR の創出を試みている。試験管内進化法を数ラウンド行い、RNA の濃縮が RT-PCR によって確認できた。現在、取得した RNA がメチル基転移反応を保持しているかを検討中である。