

小型・堅固な RNA 構造体をユニットとした集積構造の構築と 蛍光アプタマーユニットの導入

○丸茂尚哉¹・松村茂祥^{1,2}・井川善也^{1,2}

(¹富山大院医薬理工学環、²富山大院理工)

Assembly of a small and rigid RNA structure to form its cyclic trimers, to which fluorescence aptamers can be introduced in a modular manner (Graduate School of Pharma-Medical Science, University of Toyama¹, Graduate School of Science and Engineering, University of Toyama²) MARUMO, Naoya¹; MATSUMURA, Shigeyoshi^{1,2}; IKAWA, Yoshiya^{1,2}

近年、集積・多量状態の細胞内 RNA を動態解析する重要性や、RNA 集積体を人工デザインし RNA 工学ツールとして用いる試みが盛んになりつつある。それに伴い、細胞内で RNA の局在、安定性、集積挙動を可視化し追跡できる手法が望まれている。

本研究では、集積 RNA を可視化する手段として、色素との結合に応じてその発光を誘起する RNA アプタマー（蛍光 RNA アプタマー）を用いる。小型で堅固な RNA をユニットとして集積構造の構築を行い、さらに、集積構造に蛍光 RNA アプタマーを組み込み、集積依存的な発光特性の発現と解析を目指す (Fig. 1)。

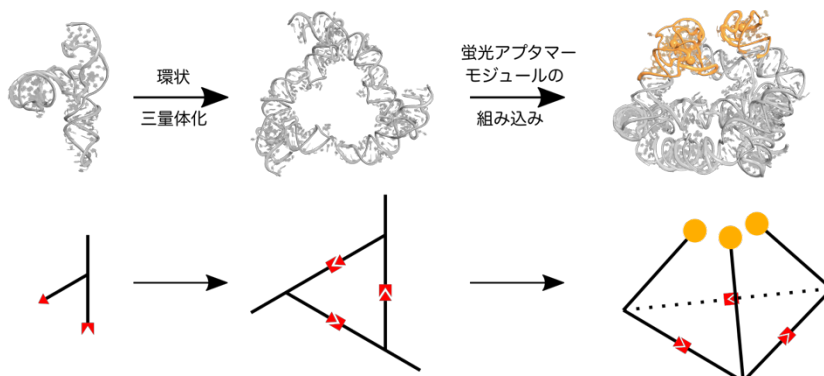


Fig. 1 RNA 集積構造の構築スキーム

結晶構造が既知である小型で堅固な RNA 構造 (P5abc RNA, 69 塩基) を基に¹⁾、ユニット間での相互作用モジュールとして kissing loop 構造²⁾を導入したユニット単量体をデザインし、さらに、その集積構造である環状三量体の分子モデリングを行った。設計した RNA を用いて非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (Native PAGE) を行い、泳動後のゲルデータから得られたバンドの位置や強度を比較し、集積構造が構築できているかの解析を行なった (Fig. 2)。Native PAGE の結果から、目的の環状三量体と考えられるバンドを確認した。

現在は、RNA ユニットに対して蛍光 RNA アプタマー³⁾を組み込んだ単量体の分子モデリング、この RNA ユニットを用いた集積構造のデザインと生化学解析を行っている。

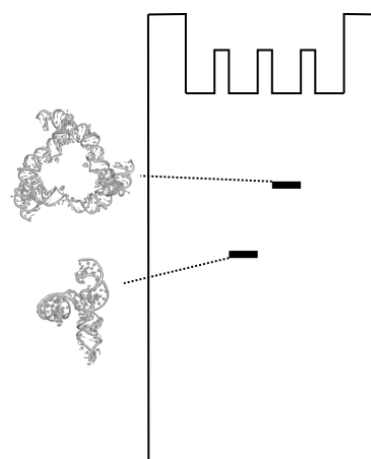


Fig. 2 Native PAGE の概略

1) Su, Z., *et al.*, *Nature*, **596**, 603-607 (2021)

2) Ennifar, E., *et al.*, *Nature Structural Biology*, **8**, 1064-1068 (2001)

3) Trachman, R. J. 3rd, *et al.*, *Nature Chemical Biology*, **15**, 472-479 (2019)