

ゲノム編集に向けたフッ化ウラシルの高精度一分子識別法の開発

(大阪教育大学附属高等学校天王寺校舎¹, 大阪大学²) ○岡田あかり¹, 大城 敬人², 小本 祐貴², 谷口 正輝²

Development of a High-Precision Single-Molecule Identification Method for Fluorouracil for Genome Editing (¹Osaka Kyoiku University Tennoji High School, ² Osaka University, ISIR) ○Akari, Okada¹, Takahito Ohshiro², Yuki Komoto², Masateru Taniguchi²

This study developed a new method for identifying 2'-fluorouracil (2'FU) and modified RNA molecules, potential editing sites in genome editing, at the single-molecule level. Experiments involved identifying RNA molecules containing the modified nucleotide 2'FU using a nano-gap device. The single-molecule signals obtained were analyzed using machine learning, achieving high discrimination ability with an F-measure over 0.9 between 2'FU and unmodified uracil. This advancement is expected to enhance the precision of gene therapies and reduce side effects.

Keywords : *Single-Molecule Detection; Nucleotide; Epigenetic modification; Nano-device*

遺伝子導入は、生物の中に新しい遺伝子を入れることで、その生物に新しい能力や特性を持たすことができる技術である。この際、遺伝子導入を正確に行い、正しく評価する手法が望まれている。本研究では、1分子検出法によるゲノム編集の評価法を提案する。これまで、ナノギャップ電極デバイスによる高速電気計測技術を利用し、核酸塩基・アミノ酸などの生体分子の1分子識別に成功している¹⁾⁴⁾。一分子検出法は個別の分子を検出できるため、オフターゲット効果や予期せぬ変異を検出可能で、ゲノム編集の精度や特異性を高く評価することが可能である。また、低頻度で発生する変異や編集イベントを高い感度で検出することも可能で、従来の解析では見逃されるような希少な変異も捉えることができる。

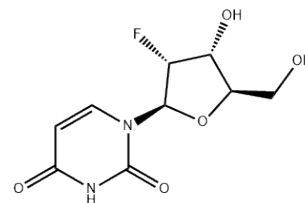


Fig.1 Structure of 2'FU

本研究では、具体的にはゲノム編集の編集点候補である 2'フッ化ウラシル (2'FU : 図) に着目し、修飾 RNA の識別方法を確立することを試みた。ナノギャップ電極を用いて、2'FU と未修飾のウラシル (U) 分子の高速電気計測技術を行った。実験は以下のようにして行った。まず、測定溶液として、2'FU および対照分子である U の水溶液に対して、ナノギャップ電極を用いた高速電流計測を行った。その結果、1分子ごとの電流シグナルを得ることに成功した。これらのシグナルから特徴量を抽出し、機械学習による1分子の識別を試みた。2'FU と U のシグナルデータの八割をもちいて学習した分類器を、残りのデータでテストし、F1 値で評価した。その結果 精度 0.9 以上で識別することに成功した。この技術は遺伝子治療の精度向上と副作用減少に寄与する可能性がある。

引用: 1) Sci. Rep. 2021, 11, 19304, 2) Sci.Rep., 2019, 9, 3886, 3) Nat. Nanotech. 2014, 9,835-840 4) J. Phys. Chem. C, 2019, 123, 15867-15873