

生命と化学

2021 年度採択研究代表者

2022 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

## 研究成果の概要

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、以下のような成果を得た。

### (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、RNA中の任意の位置のアデノシンを1-メチルアデノシン(m<sup>1</sup>A)に変換するリボザイムである。本プロジェクトでは、MTRのハイスループット解析系を確立した。メチル基転移反応を行い、メチル化されたリボザイムを逆転写によって、DNAに変換した。そのDNA配列情報を次世代シーケンスによって得た後、変異プロファイリング法で解析する方法を開発した。本方法は、理論上、5000種類以上のメチル基転移リボザイムを一回の実験で解析することができる。

### (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。2022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い、酵母の形質転換体を得た。現在、細胞内におけるMTRの発現と活性を確認中である。

### (C) 新機能を持った核酸触媒の開発

本プロジェクトでは7-メチルグアノシン合成リボザイムの創出を試みている。試験管内進化法を8ラウンド行い、RT-PCRによってRNAの濃縮を確認できた。放射性同位体で標識したメチル基供与体を用いて、RNAプール中にメチル基転移活性があることを見出した。RNAプールの配列をRNAシーケンスによって分析し、最終的に125種類のリボザイム候補配列を得た。この125種類のRNA配列を(A)で開発した手法を用いて分析したところ、メチル基転移活性を保持しているであろうリボザイム配列を得た。このリボザイム配列の活性を測定したところ、メチル基転移活性があることが示唆された。現在、この新規リボザイムの機能解析を行なっている。