

抗体のRNA高次構造認識特異性を利用した修飾塩基検出

ナノバイオデバイス研究グループ・吉岡 恭子

研究のねらい

- RNA修飾が多様な生体機能や疾病等に関与していることが報告され、エピトランスクリプトーム研究は急速に進歩している。RNA修飾計測技術の開発は不可欠な要素技術である。
- RNA修飾計測技術に関しては、修飾塩基抗体により濃縮されたRNAの網羅的な配列解析が主流であり、マーカ候補となり得るRNA配列中の特定修飾塩基の検出は困難な状況であった。
- 本研究では、RNA-DNAハイブリッド鎖の高次構造内の塩基を抗体が選択的に認識することを利用して、RNAの配列選択的な修飾情報を迅速・簡便に得る計測方法の開発を目的とした。

新規技術の概要と特長

RNAの後天的な修飾が、細胞分化・生体リズム等、様々な生体機能を制御していることが明らかになってきている。また、RNAメチル化とがんや糖尿病等の疾患との関連が報告されている。本研究は、抗体が核酸二重鎖の高次構造を選択的に認識することを利用して、RNA配列中の特定の修飾塩基を特異的に検出することを目的とした。

ハイブリッド鎖内にバルジ構造を形成するDNAプローブを設計し、目的のRNA配列中のN6-メチルアデノシンを抗体が認識する原理を図1に示した。抗体はバルジ領域にあるN6-メチルアデノシンに選択的に結合することを、ELISA法、および表面プラズモン共鳴法により確認した。バルジ領域にある塩基は塩基対を形成せず運動性を持つため、抗体に認識されやすいと考えられた。大腸菌の23S rRNA配列にあるN6-メチルアデノシン(m6A₂₀₃₀)を検出した結果を図2に示した。大腸菌から抽出したRNAを制限酵素MazFにより断片化した試料(MazF(+))を用いると、m6A₂₀₃₀を選択的に検出できることを示した。大腸菌培養液0.5 mLより精製したRNA試料で十分計測可能であった。本検出方法は、ヒト培養細胞のRNA修飾塩基の計測にも適用できることも確認した。

本計測方法は、RNAの化学修飾を直接抗原抗体反応により検出するため、計測手法の高感度化・迅速化・簡便化が図れると期待できる。

期待される連携・応用分野

- エピトランスクリプトーム解析技術への応用
- 特定修飾核酸塩基検出マイクロデバイスの開発

関連特許および文献

- K. Yoshioka, R. Kurita. *Anal. Chem.* 2018, 90, 7578–7582.

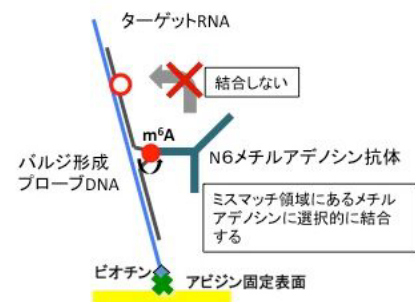


図1 抗体によるバルジ領域内のN6-メチルアデノシン検出原理

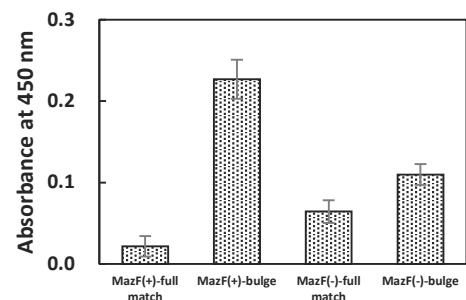


図2 バルジ形成DNAプローブを利用した大腸菌23S rRNA内のN6-メチルアデノシン検出