

甲南大学先端生命工学研究所 (FIBER) の遠藤玉樹准教授、杉本直己所長・教授らの研究グループは、米国ニューヨーク州立大学ビンガムトン校 (Binghamton University, State University of New York) の研究グループとの国際共同研究により、マイクロ RNA (miRNA) と呼ばれる遺伝子発現調節に関与する細胞内在性の RNA の機能を抑制する人工核酸分子の開発に成功しました。この研究成果は、米国化学会の学術誌「ACS Chemical Biology」に掲載され、掲載号の表紙 (Supplementary Cover) に採択されました。

細胞の中には、miRNA と呼ばれる機能性 RNA が存在しており、生物としての機能 (個体の発生など) に重要な役割を果たしているだけでなく、癌などの疾患の発症や進行にも関連していることが示されています。そのため、miRNA は疾患の発症を抑制したり、治療したりするための新たな創薬標的として注目を集めています。細胞内で miRNA が生成される過程では、まず、primary miRNA (pri-miRNA) と呼ばれる長い一次転写産物が産生されます。

pri-miRNA は、核内で Drosha と呼ばれるエンドヌクレアーゼを主体としたタ

ンパク質複合体に認識され、切断を受けることで約 60 塩基程度のヘアピン型二次構造を形成する precursor miRNA (pre-miRNA) になります。次に、pre-miRNA は細胞質に輸送され、Dicer と呼ばれるエンドヌクレアーゼによるさらなる切断を受け、成熟した二本鎖 miRNA となります (図 1)。そして、成熟した二本鎖 miRNA は RISC (RNA-induced silencing complex) を形成し、二本鎖のうちどちらかがガイド鎖として機能して様々な遺伝子の発現調節に関与します。この過程において、pre-miRNA のヘアピン型二次構造は、Dicer による認識に必要な基本構造となっています。ヒトの場合、これまでに 2000 種類を超える miRNA がデータベースに登録されていますが、それぞれの pre-miRNA の二次構造領域には、特徴的な塩基対の並びが存在しています。そのため、この塩基対の並びを特異的に認識して強く結合できる分子を構築できれば、特定の pre-miRNA から miRNA への成熟とその機能を阻害することができると想定されます (図 1)。

FIBER では、米国ニューヨーク州立大学ビンゲハムトン校の Eriks Rozners 教授のグループとの国際共同研究を行い、RNA の二重らせん領域 (二次構造領域) を配列特異的に認識して三重らせん構造を形成する人工核酸として、ペプチド

骨格を有する Peptide Nucleic Acid (PNA)を開発しています。これまでに、開発した PNA を、人工的な遺伝子発現制御や RNA の化学修飾の検出などに活用してきました¹⁾。

そこで本研究では、細胞内在性の miRNA を標的とした PNA を合成し、三重らせん構造の形成を介して pre-miRNA から miRNA への成熟過程を阻害することを試みました。具体的には、癌細胞の増殖や炎症性の皮膚疾患などとの関連性が報告されている miRNA (miR-197) を標的とした PNA を設計、合成しました (図 2)。合成した PNA は、in vitro での実験において、標的となる RNA の二次構造領域に対し、37°C における解離定数として 1 nM 以下の高い親和性を示すこと、Dicer タンパク質による pre-miRNA の切断反応を阻害することが確認されました。さらに、PNA を細胞内に導入した場合、細胞内在性の miR-197 の成熟を特異的に抑制し、成熟型 miR-197 の存在量が減少することが定量 PCR による実験で示されました (図 2)。

この結果は、in vitro での実験系だけでなく、分子夾雑環境にある生細胞内でも

PNA/RNA の三重らせん構造が形成され、miRNA の成熟過程を人工核酸分子によって化学的に制御できたことを示しています。上述のように、それぞれの pre-miRNA には特徴的な塩基対の並びからなる二次構造領域が存在しています。そのため本研究を発展させ、miRNA ごとに PNA を設計することで、任意の miRNA の成熟と機能を特異的に阻害する汎用性の高い創薬技術へ展開できると期待されます。

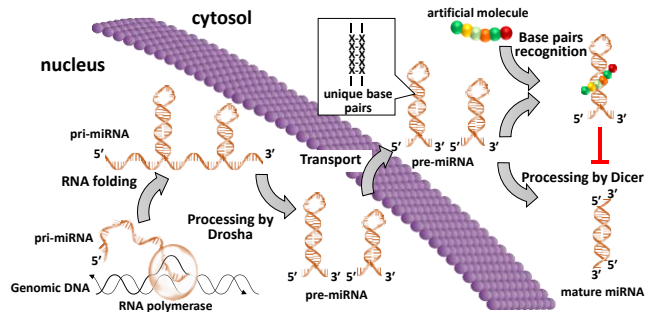


図 1 miRNA の成熟過程と RNA 二次構造を認識する人工分子による miRNA

成熟阻害の概念図

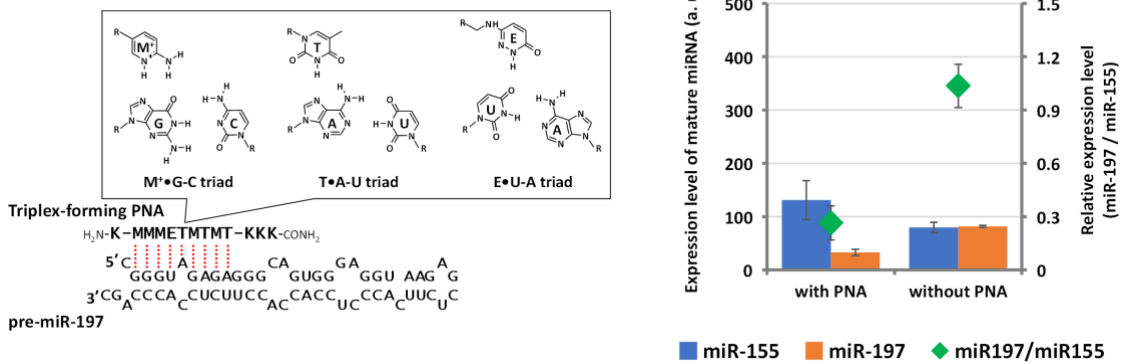


図 2 pre-miR-197 を標的とした triplex-forming PNA の設計、および triplex-forming PNA を導入した細胞 (SH-SY-5Y) における成熟 miR-197 の減少