

Dicer 切断産物のハイスループットシーケンシングによる RNA-小分子結合モチーフの同定

(阪大産研) ○高島 裕介・村田 亜沙子・中谷 和彦

High-throughput Sequencing of Dicer cleavage products for Identification of RNA-Small Molecules Binding Motifs (*The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University*) ○Yusuke Takashima, Asako Murata, Kazuhiko Nakatani

Non-coding RNAs are a new class of targets for drug discovery because they are involved in various cellular processes and diseases. However, there are few guidelines for designing small molecules that target RNAs. In this study, we report a simple and efficient method to comprehensively analyze target RNA motifs that bind to a specific small molecule. The method involves Dicer catalyzed pre-miRNA cleavage and subsequent analysis of the reaction products with high-throughput next generation sequencing. A pre-miRNA mutant library containing a randomized region at the Dicer cleavage site was used for the cleavage reaction. Sequencing analysis of the products of the reaction carried out in the presence or absence of a synthetic small molecule identified the pre-miRNA mutants of which Dicer-mediated cleavage was significantly altered by the addition of the small molecule.

Keywords : Dicer; Next generation sequencing; miRNA; small molecule

ノンコーディング RNA は、さまざまな疾患や細胞プロセスに関与しており、創薬における重要なターゲットである。さらに近年では RNA ウイルスに対する需要の高まりから、RNA を標的とした創薬研究の発展が期待されている。しかし、RNA を標的とする小分子設計には、未だ明確な指針は見いだされていない。今回我々は、特定の小分子に結合するターゲット RNA モチーフを網羅的に探索、評価する手法を提案、実証した(下図)。本手法は、Dicer が触媒する pre-miRNA の切断反応と、ハイスループットシーケンシングによる反応産物の分析から成る。Dicer 切断反応の活性部位近傍の6塩基をランダム化した4096種の pre-miRNA mutants を基質とし、RNA 標的小分子の存在下または非存在下で切断反応を行なったのち、反応産物を次世代シーケンサーで分析した。その後の統計解析により、小分子の添加による Dicer 切断反応効率が有意に変化した pre-miRNA mutants が同定された。本講演ではより詳細な手法及び最新の解析結果について報告する。

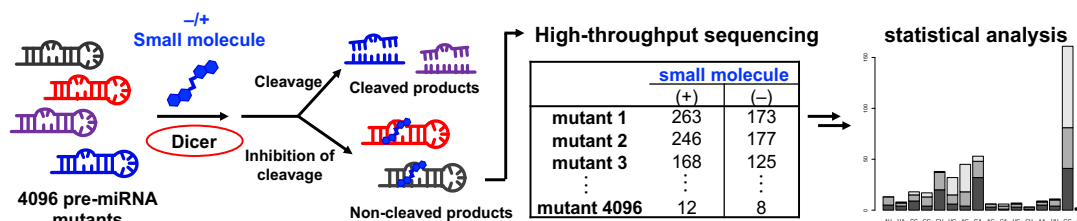


図. 小分子が結合する RNA 配列の網羅的探索手法の概略図