5’-末端修飾によるsiRNA非対称性認識への影響とオフターゲット効果の回避

Effect of 5’-Modification on the Asymmetry Recognition of siRNA and the Elimination of Off-Target Effect

○藤井 政幸[1]、神武 洋二郎[1]、塩浜 康雄[2]
○Masayuki Fujii[1], Yojiro Kotake[1], Yasuo Shiohama[2]

1. 近畿大学産業理工、2. 山口大学医
1. Sci Tech., Kindai University, 2. Sch. Med., University of Yamaguchi

2012年にRISCの中核をなすヒトアルゴノート2（hAgo2）のX線結晶構造が解明され、リン酸化されたガイド鎖5’-末端がhAgo2のMIDドメインのカチオン性アミノ酸が多く集まるポケットに取り込まれて安定化されていることが明らかとなった。 siRNAの5’-末端水酸基をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）に置換することによる非対称性認識、ガイド鎖選択、RISCの安定性、標的mRNAへの結合と切断効率などへの影響を考察し、オフターゲット効果が低くRNAi効果の高いsiRNAを分子デザインすることを目的として、そのRNAi効果を評価した。 その結果、次のことが明らかとなった。 (1) 2本鎖siRNAの一方の5’-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は2本鎖siRNAの非対称性認識とRISC形成における方向性に大きな影響を与え、1本鎖化後の成熟RISC中に未修飾の鎖がガイド鎖として取り込まれる確率が高くなった。 (2) 2本鎖siRNAの両方の5’-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は、XまたはZで修飾された鎖が成熟RISC中にガイド鎖として残るが、そのサイレンシング効果は大きく低下したが、ゼロにはならなかった (3) センス鎖の5’-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は未修飾のアンチセンス鎖がガイド鎖として取り込まれる確率が高くなった。

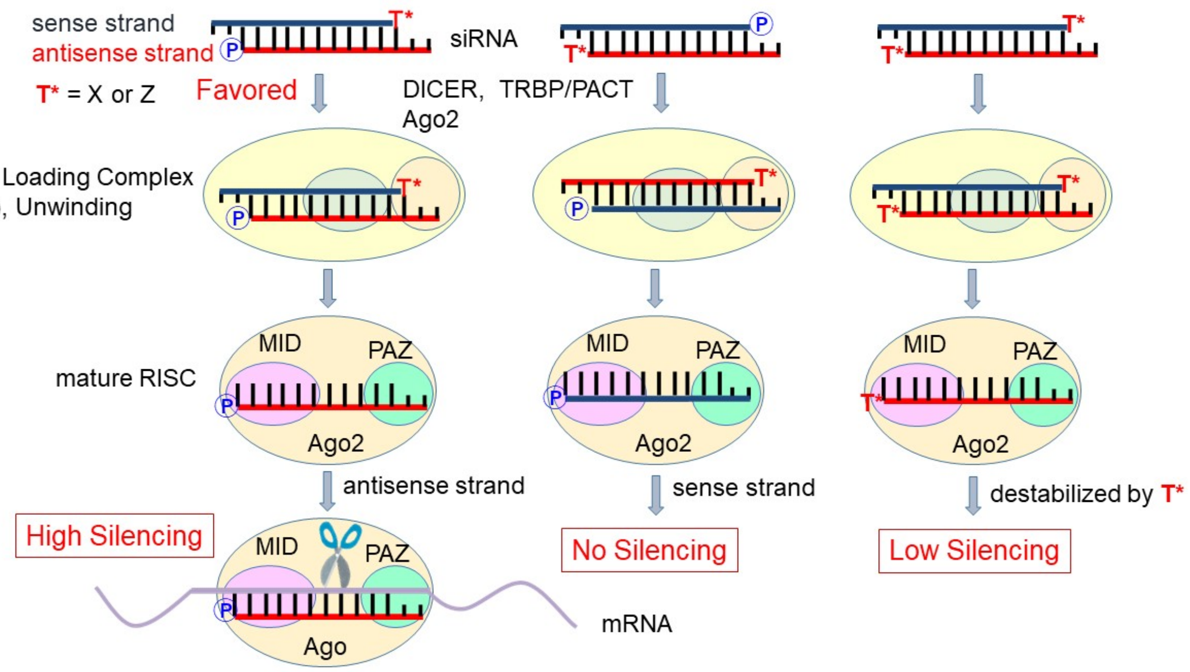

Figure 1. Influence of Modification of siRNA with X and Z on RNAi Processes.

Effect of 5'-Modification on the Asymmetry Recognition of siRNA and the Elimination of Off-Target Effect

〇Masayuki Fujii[1], Yojiro Kotake[1], Yasuo Shiohama[2]

1. Sci Tech., Kindai University, 2. Sch. Med., University of Yamaguchi

2012年にRISCの中核をなすヒトアルゴノート2（hAgo2）のX線結晶構造が解明され、リン酸化されたガイド鎖5'-末端がhAgo2のMIDドメインのカチオン性アミノ酸が多く集まるポケットに取り込まれて安定化されていることが明らかとなった。 siRNAの5'-末端水酸基をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）に置換することによる非対称性認識、ガイド鎖選択、RISCの安定性、標的mRNAへの結合と切断効率などへの影響を考察し、オフターゲット効果が低くRNAi効果の高いsiRNAを分子デザインすることを目的として、そのRNAi効果を評価した。 その結果、次のことが明らかとなった。 (1) 2本鎖siRNAの一方の5'-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は2本鎖siRNAの非対称性認識とRISC形成における方向性に大きな影響を与え、1本鎖化後の成熟RISC中に未修飾の鎖がガイド鎖として取り込まれる確率が高くなった。 (2) 2本鎖siRNAの両方の5'-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は、XまたはZで修飾された鎖が成熟RISC中にガイド鎖として残るが、そのサイレンシング効果は大きく低下したが、ゼロにはならなかった (3) センス鎖の5'-末端をメトキシ基（X）またはアミノ基（Z）で修飾した場合は未修飾のアンチセンス鎖がガイド鎖として取り込まれる確率が高くなった。

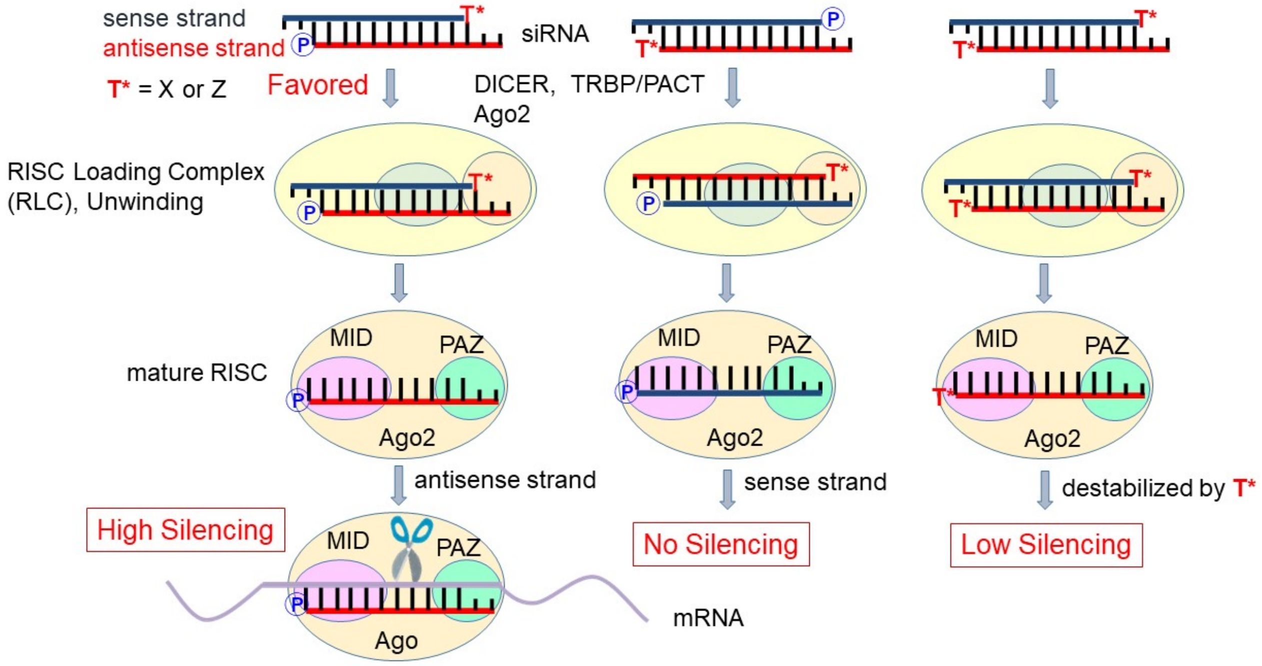

Figure 1. Influence of Modification of siRNA with X and Z on RNAi Processes.