

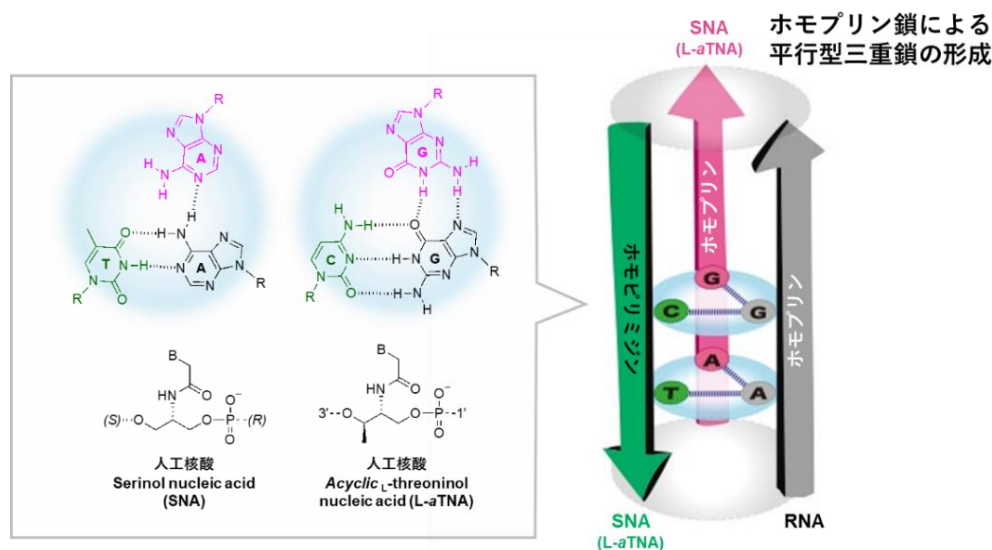
報道関係者 各位

2024 年 1 月 24 日

人工核酸と RNA がつくるユニークな三重鎖構造 ～ホモプリン鎖をもつ平行三重鎖構造の発見～

神戸薬科大学 生命分析化学研究室の神谷由紀子教授、有吉純平助手は、名古屋大学大学院工学研究科 浅沼浩之教授、労思源修士(現博士課程 1 年生)との共同研究により、人工核酸 Serinol Nucleic Acid (SNA)ならびに L-threoninol Nucleic Acid(L-*a*TNA)が RNA とともに、天然には存在しないユニークなホモプリン型の平行三重鎖構造を形成することを発見しました。

本研究の成果によって得られた核酸の新規構造は、核酸のナノテクノロジーやバイオテクノロジーへの応用、また、新たなデザインの核酸医薬品の創製にもつながることが期待されます。2024 年1月4日に国際化学雑誌「*Chemical Communications*」への掲載に先立ち Web 上で公開されました。さらに、研究成果を発表する掲載号で、本研究のイメージ図が Outside front cover (表紙)に選ばれました。



<研究に関する問い合わせ>

神戸薬科大学生命分析化学研究室

教授 神谷由紀子、助手 有吉純平

〒658-8558

神戸市東灘区本山北町4丁目19-1

TEL: 078-441-7548

FAX: 078-441-7550

E-mail: y-kamiya@kobepharm-u.ac.jp

URL: <https://www.kobepharm-u.ac.jp/analchem/>

<報道に関する問い合わせ>

神戸薬科大学企画・広報課

〒658-8558

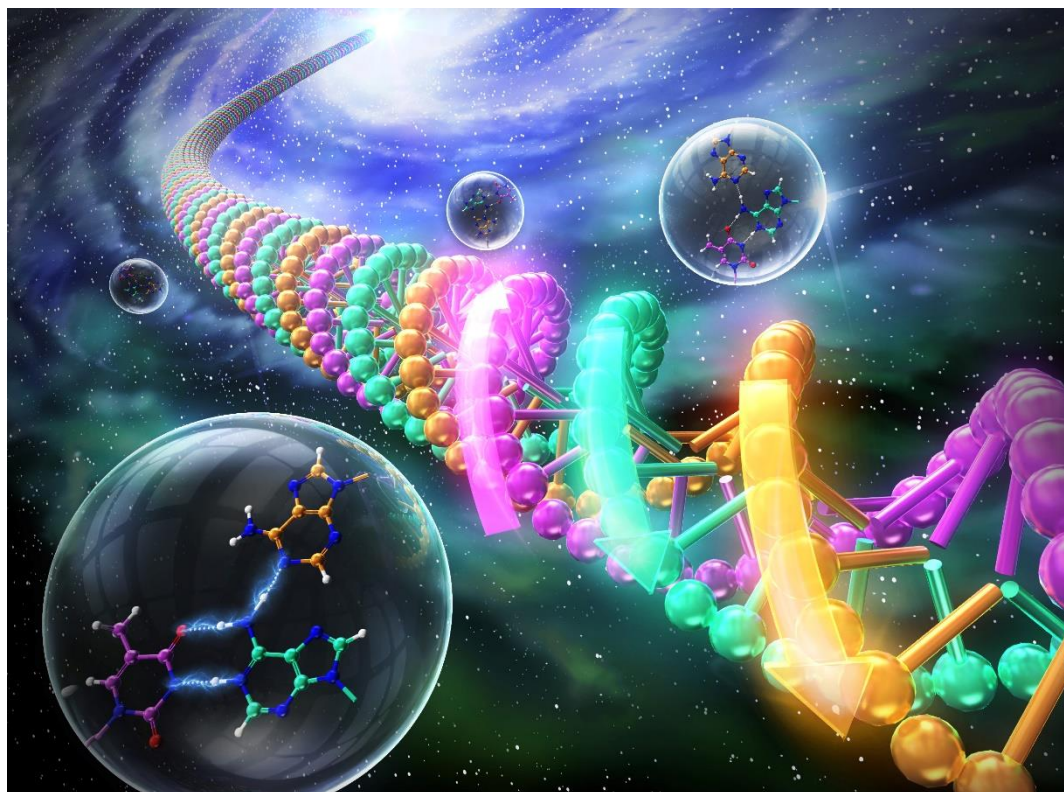
神戸市東灘区本山北町4丁目19-1

TEL: 078-441-7505

FAX: 078-414-8081

E-mail: kikaku@kobepharm-u.ac.jp

URL: <https://www.kobepharm-u.ac.jp>



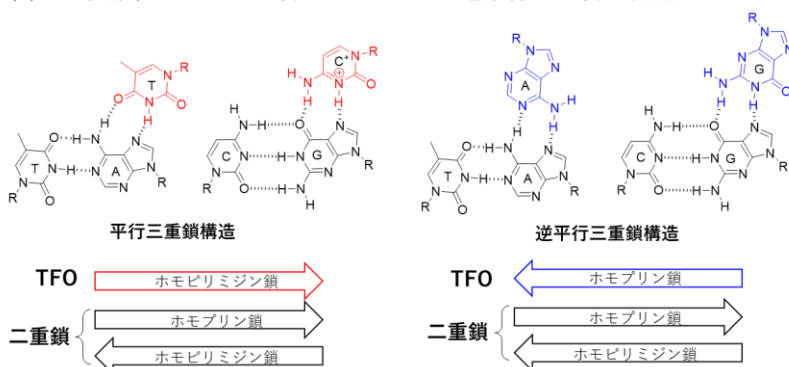
本研究のイメージ図

【研究の背景】

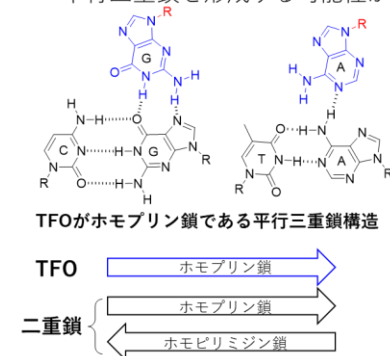
核酸はプリン骨格をもつ核酸塩基アデニン(A)とグアニン(G)、ピリミジン骨格をもつ核酸塩基チミン(T)とシトシン(C)をもち、AはT、GはCとワトソン・クリック塩基対を形成することで、逆平行の二重鎖らせん構造を形成します。また、ワトソン・クリック塩基対と非標準型の塩基対であるフーグスティーン塩基対を形成することによって、三重鎖、グアニン四重鎖、i-モチーフなどの多重鎖構造を形成することも知られています。これまで、平行三重鎖構造は、弱酸性条件下、ワトソン・クリック塩基対からなる二重鎖のホモプリン鎖を、ホモピリミジン鎖^{*1} からなる三重鎖形成核酸(TFO)が認識することによって形成されることが知られていました。この三重鎖構造は、天然核酸のみならず、Peptide nucleic acid などの人工核酸でも形成可能であることが分かっていました。一方で、ホモプリン鎖^{*2} は、二重鎖のホモプリン鎖を認識し、逆平行三重鎖を形成すると報告されていました。ところが以前、我々のグループは人工核酸^{*3} である Serinol nucleic acid (SNA)と L-threoninol nucleic acid (L-*a*TNA)において、SNA:RNAと L-*a*TNA:RNA のヘテロ二重鎖の立体構造を X 線結晶構造解析により決定した際に、偶然にも、結晶中でヘテロ二重鎖の末端にワトソン・クリック塩基対(:)とフーグスティーン塩基対(*)からなる C:G*G の三重鎖構造が形成されていることを見出しました。この三重鎖構造は、ホモプリン鎖の RNA とホモプリン鎖の人工核酸が平行配向するものでした。この結果を受けて、本論文では、ホモプリン鎖からなる SNA(L-*a*TNA)と RNA/SNA(L-*a*TNA)二重鎖による平行三重鎖形成について調査しました。



(a) 従来、ホモプリン鎖からなるTFOは逆平行三重鎖を形成する



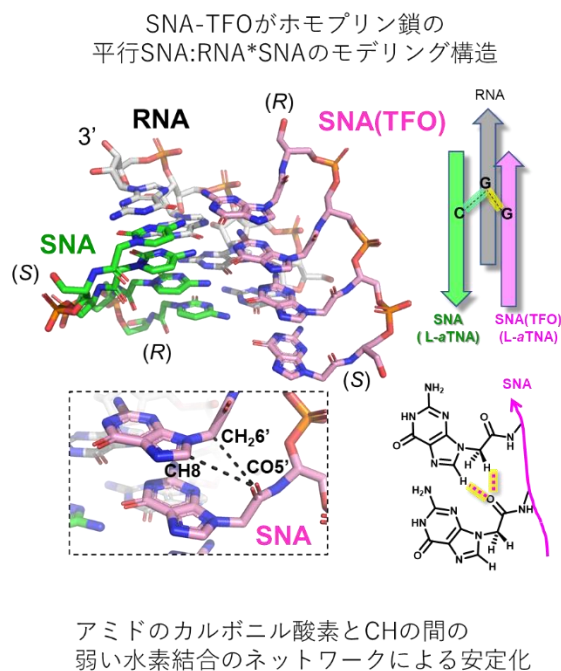
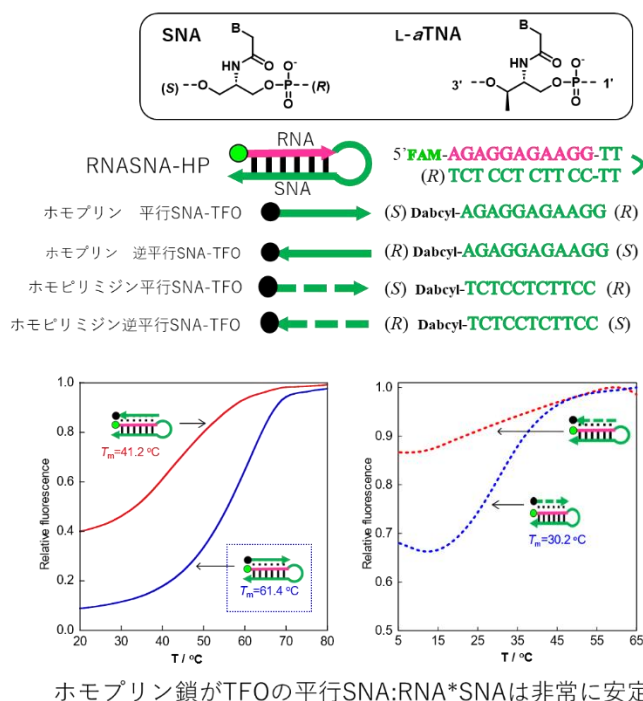
(b) SNA(L-*a*TNA)のホモプリン鎖は平行三重鎖を形成する可能性が浮上



【研究成果の概要】

人工核酸 SNA および L-*a*TNA は自己相互作用が強いため、人工核酸同士の相互作用を避けるために RNA と人工核酸からなるヘアピン型オリゴ核酸(RNASNA-HP)と一本鎖の人工核酸(SNA-TFO)を調製し、RNASNA-HP と SNA-TFO の相互作用を設計しました。蛍光標識した RNASNA-HP と SNA-TFO を用いた非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動による解析、RNASNA-HP と SNA-TFO に導入した色素による蛍光消光を用いた融解温度(T_m)測定によって、RNASNA-HP と SNA-TFO が期待通りに平行三重鎖を形成することを明らかにしました。この核酸構造の形成は核酸塩基配列に依存することわかりました。また、ホモプリン鎖が一般的に形成する逆平行三重鎖の融解温度と比較した結果、平行三重鎖である SNA:RNA*SNA の T_m は、逆平行三重鎖のものよりも非常に高く、SNA:RNA*SNA は極めて安定な平行三重鎖を形成することを明らかとしました。また TFO がホモプリン鎖の平行三重鎖 SNA:RNA*SNA は、TFO がホモピリミジン鎖である平行三重鎖よりも高い安定性をもつこともわかりました。SNA を L-*a*TNA に置き換えた L-*a*TNA:RNA*L-*a*TNA でも同様に、配列特異的に非常に安定な平行三重鎖を形成する結果が得られました。さらに、SNA:DNA*SNA や SNA:SNA*SNA についても同様の平行三重鎖構造を形成するかどうかを調べたところ、本三重鎖構造は DNA と RNA に対して形成できることがわかりました。

ホモプリン鎖による平行三重鎖構造では、核酸塩基の配向から A*A 間のフーグスティーン塩基は一本の水素結合によって形成されていると考えられます。にもかかわらずこのような安定な三重鎖を形成した理由を結晶構造をもとにして構築した分子モデリングにより考察しますと、SNA および L-*a*TNA の主鎖と核酸塩基をつなぐリンカーに存在する C=O が、隣接残基のリンカー部分の -CH₂- そしてプリン塩基の 8 位の-H と弱い水素結合を形成していることが考えられました。



以上のように、本研究では、人工核酸 SNA および L-aTNA と RNA のヘテロ二重鎖が、ホモプリン塩基からなる SNA および L-aTNA と、非常に安定な平行三重鎖構造を形成することを見出しました。この平行三重鎖構造は、これまでに報告されておらず、本研究によって新たに発見されたものです。得られた成果は核酸のナノテクノロジーやバイオテクノロジーへの応用、また、新たなデザインの核酸医薬品の創製に繋がることが期待されます。

本研究の一部は稲盛研究助成、JSPS 科研費 (JP21H05025、JP23H04067)、AMED (JP23am0401007)、2023 年度自然科学研究機構生命創成探究センター共同利用研究 (23EXC202) の助成により行われました。

【用語説明】

- *1 ホモピリミジン鎖: 核酸塩基が T か C で構成されるオリゴ核酸のこと。
- *2 ホモプリン鎖: 核酸塩基が A か G で構成されるオリゴ核酸のこと。
- *3 人工核酸: DNA、RNA の天然核酸を構成するリン酸、糖、核酸塩基のうち、リン酸あるいは糖部分の骨格が天然とは異なる化学構造をもつ人工的な核酸分子のこと。

【掲載論文】

雑誌名: *Chemical Communications*

論文名: Unexpectedly stable homopurine parallel triplex of SNA:RNA*SNA and L-aTNA:RNA*L-aTNA

著者: Yukiko Kamiya, Siyuan Lao, Jumpei Ariyoshi, Fuminori Sato, Hiroyuki Asanuma

URL: <https://doi.org/10.1039/D3CC05555H>