

4-チオフラノースを構成糖に持つ人工核酸による遺伝子発現

(徳大院薬) ○田良島 典子・松尾 礼子・南川 典昭

The gene expression of 4'-thioDNA via 4'-thioRNA in artificial cells. (*Graduate School of Pharmaceutical Science, Tokushima University*,) ○ Noriko Saito-Tarashima, Noriaki Minakawa

DNA and RNA nucleotides are ubiquitous molecules that store and transmit genetic information. However, the emergence of synthetic nucleotides that fulfill the function of DNA and RNA provides an alternative gene expression system. Herein, we demonstrate the gene expression of 4'-thioDNA via 4'-thioRNA to give protein both in a single test tube and in an artificial cell comprising a reconstituted *Escherichia coli* gene expression machinery. This work consists of simple experiments that are widely used in existing molecular biology, but which underscores the feasibility of life control by substances other than DNA/RNA nucleotides.

Keywords : *artificial nucleic acids, artificial cells, gene expression, 4-thio furanose, 4'-thionucleic acids*

セントラルドグマを構成する DNA や RNA は遺伝情報の保存・伝達を担う唯一の分子である。一方で近年、天然型 DNA および RNA の機能を代替可能な人工核酸の開発が精力的に行われている。我々はこれまでに、天然型核酸と生物学等価性を有する人工核酸として 4-チオフラノースを構成糖に持つ人工核酸、すなわち 4'-チオ核酸類 (Fig. 1) の開発研究を行ってきた。本研究では、4'-チオ DNA に保存された遺伝情報を 4'-チオ RNA へと転写し、タンパク質を合成する遺伝子発現系の構築に成功した。

まず初めに、2'-デオキシ-4'-チオヌクレオシド三リン酸体 (d^S NTP) を用いた PCR により、GFP をコードする 4'-チオ DNA を合成した。続いて、4'-チオ DNA から 4'-チオリボヌクレオシド三リン酸体 (r^S NTP) 存在下にて 4'-チオ RNA への転写反応を検討した結果、 d^S G DNA から r^S C RNA への転写反応が、天然型と遜色ない効率で進行することが明らかとなった。また、得られた r^S C RNA を、大腸菌の無細胞タンパク質合成反応に付したところ、産物量は少ないものの、 r^S C RNA が mRNA 活性を有することが確認出来た。

続いて、以上の遺伝子発現をワンポットで連続して行うことを検討した。すなわち、 d^S G DNA をテンプレートとし、 r^S C RNA への転写に必要な T7 RNA ポリメラーゼ、 r^S CTP、その後の翻訳反応に必要なリボソームやアミノ酸などの翻訳因子を加え、反応を行った。その結果、遺伝子発現効率は天然より劣るものの、ワンポットにて 4'-チオ DNA に保存された遺伝情報を 4'-チオ RNA へと転写し、タンパク質 (GFP) を合成することに成功した¹⁾。さらに、4'-チオ核酸類による遺伝子発現系を持つ人工細胞の構築を試みたので、本発表ではそれらの詳細について発表する。

1) N. S. Tarashima, A. Matsuo, N. Minakawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 17255–17259.

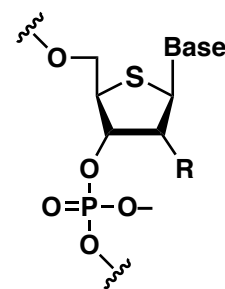


Fig. 1 4'-チオ核酸類