

大環状ヘキサオキサゾール型 G4 リガンド類による液-液相分離誘起能の解析

(東農工大院工) ○大山 彩・佐々木 捷悟・寺 正行・長澤 和夫

Analysis of liquid-liquid phase separation inducing ability with macrocyclic hexaoxazole-type G-quadruplex ligands (Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology) ○Akari Oyama, Shogo Sasaki, Masayuki Tera, Kazuo Nagasawa

Liquid-liquid phase separation (LLPS) induced by the assembly of nucleic acids and proteins in cells forms droplets, and is involved in various biological functions and diseases. However, the molecular mechanism of the formation of droplets and aggregates remains unclear because the interaction points of each molecule forming the droplet are multiple and complex. In this study, we focused on G-quadruplex (G4), a higher-order structure of nucleic acids, and analyzed the phase-transition process with macrocyclic hexaoxazole-type G-quadruplex ligands by turbidity measurement and microscopic observation of the mixed solution of the compound and DNA. As a result, mixed solutions of macrocyclic hexaoxazole dimer and G4-forming sequences formed aggregates. On the other hands, the mixture of the ligand and double-stranded induced LLPS and formed droplets.

Keywords: liquid-liquid phase separation; G-quadruplex; macrocyclic hexaoxazoles; aggregation

【目的】細胞内では、核酸やタンパク質が集合することで液-液相分離 (LLPS) が起こり液滴を形成する。これら液滴や液滴の相転移により形成される凝集体は、様々な生体内機能や疾患に関与している。この液滴は、分子間で疎水性相互作用と静電相互作用が働き、高い自由度で互いに多点認識することで形成されると考えられる¹⁾。しかし、液滴を形成する分子の相互作用点は複数かつ複雑であるため、液滴および凝集体の分子レベルでの形成機構は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、核酸高次構造の一種であるグアニン四重鎖 (G4) に着目し、タンパク質を模倣した大環状ヘキサオキサゾール型 G4 リガンド (6OTD) 類を用いて、LLPS の誘起に必要な分子特性を解析することを目的とした。

【実験・結果】LLPS の誘起には、四要素 (疎水性相互作用、静電相互作用、自由度の高さ、多価相互作用) が重要だと考えられる。当研究室で開発した 6OTD 類²⁾は、G4 に対して高い選択性および安定化能と側鎖に正電荷を有している³⁾。そこで、自由度の高いアルキル鎖リンカーを合成し、それを用いた 6OTD の二量体化により、当該四要素を満たすことができると考え、6OTD 二量体を合成した (Figure 1a)。得られた化合物類と DNA (G4 形成配列および二本鎖配列) との相転移を、混合溶液の濁度測定および顕微鏡での観察により評価した。その結果、リガンドの添加により、G4 形成配列はゲル状の凝集体へ、一方で二本鎖配列は液滴へそれぞれ相転移を誘起することを見出した (Figure 1b)。

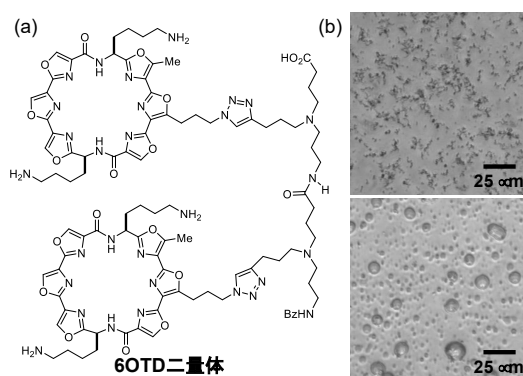


Figure 1. (a) 6OTD二量体の構造式
(b) 観察された凝集体および液滴
(上: G4形成配列、下: 二本鎖配列)

【References】1) M. Kanai *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2021**, 94, 1045-1058; 2) K. Nagasawa *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5557; 3) A. T. Phan *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 13495-13501.