

非環状型人工核酸を利用した多彩な生物学的ツールの創製

(名大院工) 村山 恵司

Study on Versatile Biological Tools Composed of Acyclic Xeno Nucleic Acids (*Graduate School of Engineering, Nagoya University*) Keiji Murayama

Xeno Nucleic Acids (XNAs) are DNA analogues composed of unnatural scaffolds. We have developed novel acyclic XNAs, D-*a*TNA, L-*a*TNA, and SNA. We newly developed (1) orthogonal signal amplification by *a*-TNAs using hybridization chain reaction, which realizes robust RNA detection, (2) photo-responsive formation and dissociation of SNA/RNA duplex, and (3) non-enzymatic strand extension reaction of L-*a*TNA for artificial genome system. These strategies would greatly expand the field of application of the nucleic acid tools composed of acyclic XNAs.

Keywords : Xeno Nucleic Acid; Chemical Ligation; DNA circuit; RNA detection;

XNA (xeno nucleic acid)はDNAのリボース骨格を改変した核酸アナログの総称である¹⁾。我々はこれまでに、合成が容易かつ優れた酵素耐性を有する新たな非環状型 XNA (D-*a*TNA, L-*a*TNA, SNA)を設計・合成してきた(Fig. 1)²⁾。これら非環状型 XNA は、極めて安定なホモ二重鎖を形成し、右巻きの L-*a*TNA 及び SNA は天然核酸とも二重鎖形成が可能である。非環状型 XNA を用いた新規生物学的ツール及び新規技術の例を以下に示す。

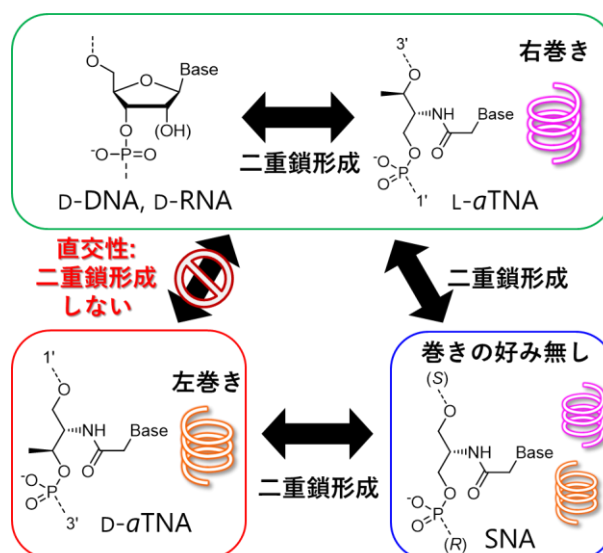


Fig. 1. 非環状型 XNA の化学構造と二重鎖形成能

1. 非環状型 XNA を利用した直交性シグナル増幅回路の開発と RNA 検出への応用

DNA 回路とは、DNA の配列特異的な二重鎖形成を介した鎖置換反応を利用する分子演算システムである。本研究では非環状型 XNA 骨格のらせんの巻き方向による二重鎖形成の直交性(Fig. 1)を利用し、互いに干渉しない直交性回路を設計した。その結果、左巻きの D-*a*TNA 及び右巻きの L-*a*TNA の回路はそれぞれ高効率なシグナル増幅を達成した。さらにこれらが共存する場合には同じ配列にも関わらず互いに干渉せず、それぞれを独立に起動させることができ、直交性を持つことが確認された。更に、SNA を Interface とすることで、右巻き RNA の配列情報を左巻き D-*a*TNA の増幅回路に伝達、蛍光シグナルで検出することに成功した³⁾。本系を利用することで、夾雑 DNA・RNA や分解酵素の影響を受けない RNA 検出システムの構築が期待できる。

2. 二重鎖形成・解離の新たな光制御法の開発

核酸二重鎖の形成と解離を光で制御することができれば、光応答性ツールやナノマシンへの応用が可能となる。本研究では新規修飾核酸塩基 $P^V A$ を SNA 鎖に 2 残基導入することで、SNA/RNA 二重鎖形成・解離を光制御する系を構築した(Fig. 2)⁴⁾。架橋前の $P^V A$ はアデニン同様に U(T)と塩基対形成し二重鎖形成が可能だが、[2+2]光付加環化反応で生じる $P^V A$ 架橋体は鎖の構造を乱すことで二重鎖形成を阻害する。すなわち、可視光照射で一本鎖に解離、紫外光照射で二重鎖形成させることができ、光照射のみで自在に会合状態を変化させることができる。このメカニズムを用いた二重鎖の光制御は DNA でも報告がない新規な手法である。応答する波長の異なる $N^V A$ を併用することで、複数の波長で二重鎖を直交的に制御することにも成功している⁵⁾。

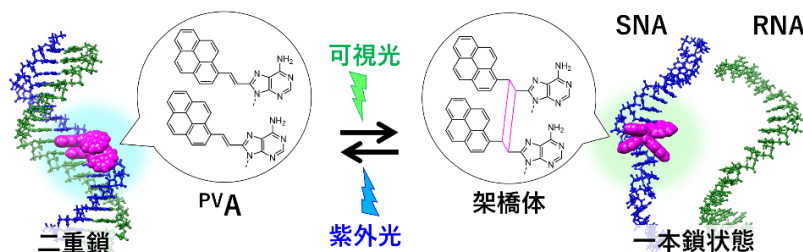


Fig. 2. $P^V A$ 導入 SNA/RNA 二重鎖形成・解離の光制御

3. 人工遺伝情報伝達システムの構築を目指した XNA の非酵素的鎖伸長法の開発

非環状型 XNA は極めて高い酵素耐性を持つ反面、酵素反応には一切適用することができない。L-aTNA の人工遺伝情報伝達システム開発を目指し、酵素に頼らない XNA 鎖伸長システムを設計した。条件検討の結果、3-mer の L-aTNA 断片のランダム配列プールを原料にして、鋳型 L-aTNA 鎖に相補的な L-aTNA 鎖を選択的に合成することに成功した(Fig. 3)。すなわち、L-aTNA の鎖伸長反応の開発に成功し、XNA の配列複製システムの基礎を構築した⁶⁾。この手法をもとに in vitro selection (SELEX)法による XNA アプタマー・XNAzyme 配列探索が実現すれば、XNA ベースの新規薬剤の創製等への応用が期待されるだけでなく、人工生命・原始生命のモデルとしても重要である。

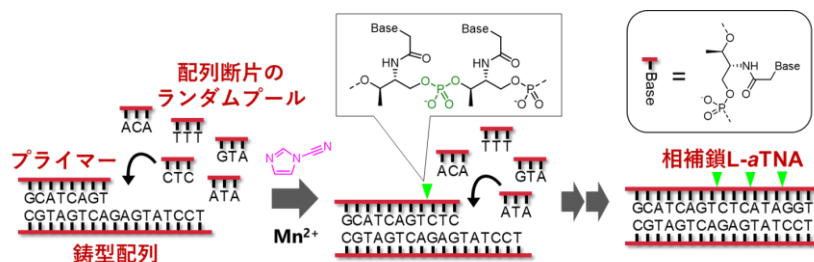


Fig. 3. L-aTNA の非酵素的鎖伸長反応の模式図

- 1) J. C. Chaput, P. Herdewijn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 11570-11572.
- 2) H. Asanuma *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 14702-14703.; H. Kashida *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 1285-1288.; K. Murayama *et al.* *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 6500-6503.; K. Murayama *et al.* *ChemBioChem*, **2021**, 22, 2507-2515.
- 3) Y. Chen *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 5887-5892.
- 4) K. Murayama *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141, 9485-9489.
- 5) Y. Yamano *et al.* *Chem. Eur. J.*, **2021**, 27, 4599-4604.
- 6) K. Murayama *et al.* *Nat. Commun.*, **2021**, 12, 804.