

グアニン四重鎖を安定化する大環状ヘキサオキサゾールオリゴマーの開発

(東農工大院工) ○大山 彩・佐々木 捷悟・寺 正行・長澤 和夫

Development of macrocyclic hexaoxazole oligomers stabilizing G-quadruplexes (*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*) ○Akari Oyama, Shogo Sasaki, Masayuki Tera, Kazuo Nagasawa

Liquid-liquid phase separation (LLPS) is caused by the local high condensation of proteins and nucleic acids and has an important role such as translational control. Recently, G-quadruplex (G4), which is found in the guanine rich single-stranded regions, has been reported to be involved in LLPS. However, the mechanism of LLPS formation has not yet been elucidated, and only a few molecules inducing LLPS have been reported. In this study, we designed multivalent type G4 ligands of macrocyclic hexaoxazole dimer (**2**) based on L2H2-6OTD (**1**) and evaluated its LLPS-inducing ability. As a result, we observed an increment of turbidity of the repeated-DNA ([GGGGCC]₄) by addition of **2** and a decrement of turbidity with hydrotropes such as 1,6-hexanediol or ATP. Furthermore, the droplet of [GGGGCC]₄ with **2** showed the recovery of fluorescence after photobleaching (FRAP), which suggested forming LLPS by **2**.

Keywords: G-quadruplex, Liquid-liquid phase separation, Macrocyclic hexaoxazoles, Oligomers, G4 ligands

【目的】細胞内でみられる液-液相分離 (LLPS) は、タンパク質や核酸が局所的に高濃度で存在することで引き起こされ、翻訳制御などにおいて重要な役割を担っている。近年、グアニン豊富な核酸の一本鎖領域において形成される特殊な高次構造であるグアニン四重鎖 (G4) と G4 結合タンパク質の LLPS への関与が報告された¹。しかし、LLPS が形成される詳しいメカニズムは未解明であり、さらに LLPS を誘導する化合物も少ない^{2,3}。そこで本研究では、G4 を主成分とした LLPS を制御する化合物の創製を指向し、G4 リガンドである大環状ヘキサオキサゾールオリゴマーの合成および LLPS 誘導能の評価を行った。

【実験・結果】当研究室で開発した G4 リガンドである大環状ヘキサオキサゾール化合物 (L2H2-6OTD; **1**)⁴ を二分子連結した 6OTD 二量体 (**2**) の合成を行った (Figure 1)。筋萎縮性側索硬化症/前頭側頭型認知症 (ALS/FTD) に関連し、G4 を形成する G₄C₂ リピート配列 [GGGGCC]₄ に対して、**1** および **2** による LLPS 誘導能を評価した。その結果、**2** を添加した時のみ、DNA-リガンド混合溶液の濁度が上昇し、ハイドロトロブ剤である 1,6-hexanediol および ATP の添加により濁度が減少した。さらに、観察された液滴において蛍光退色回復 (FRAP) が観察されたことから **2** の添加による [GGGGCC]₄ の LLPS 形成が示唆された。

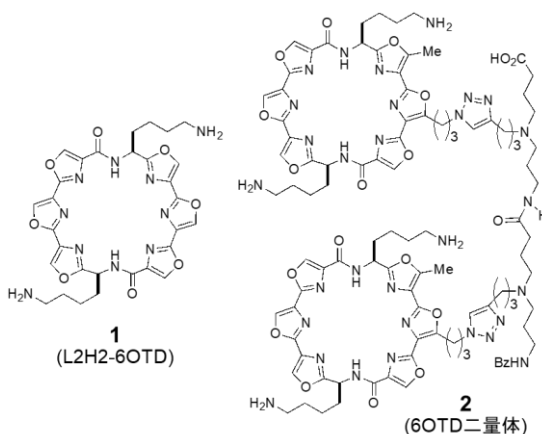


Figure 1. L2H2-6OTD (**1**) と 6OTD 二量体 (**2**) の構造式

【References】1) N. Shioda, *Folia Pharmacol. Jpn.*, **2019**, 154, 294; 2) W.K.Surewicz *et al.*, *Nat. Commun.* **2020**, 11, 5574; 3) Abbas, M., Lipiński, W.P., Nakashima, K.K. *et al.*, *Nat. Chem.* **2021**, 13, 1046–1054; 4) K. Nagasawa *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 5557.