

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：31602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K14597

研究課題名(和文) 核酸のメタロ塩基対形成から探る生命誕生以前の原始地球における核酸分子の高分子量化

研究課題名(英文) Investigating the potential of a metallo-base pair to induce the prebiotic polymerization of nucleic acids

研究代表者

大樂 武範(Dairaku, Takenori)

奥羽大学・薬学部・助教

研究者番号：80642636

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヌクレオチド類のメタロ塩基対形成を介したポリヌクレオチド鎖の生成を検証する前段階として、ヌクレオシドモノマーの Ag<sup>+</sup>を介したメタロ塩基対形成について検証実験を行った。Ag<sup>+</sup>を介したメタロ塩基対形成の電気化学的解析の結果、Ag<sup>+</sup>を介したメタロ塩基対形成に伴い、Ag<sup>+</sup>が還元されにくくなるという特性があることを見出した。また、シチジン/Ag<sup>+</sup> (2:1)錯体を化学的に還元することでAgナノ粒子が合成できることを見出した。この発見は、ヌクレオシドモノマーであるシチジンがメタロ塩基対形成を経由することで、化学反応の触媒となりうる物質であるAgナノ粒子の形成に関与できることを示唆するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現存する生命でみられるようなゲノム長の核酸分子の生成過程は未解決の難問となっている。本研究の成果は、ヌクレオシドモノマーにおいてもメタロ塩基対形成が可能であることを示している。また、ヌクレオシドモノマーがメタロ塩基対形成を経由することで、化学反応の触媒となりうる物質であるAgナノ粒子の形成に関与できることも示唆された。このような、核酸分子の隠れた特性の解明は、生命誕生の謎を解き明かすための重要なヒントにつながることで期待される。

研究成果の概要(英文)：To investigate the potential of a metallo-base pair to induce the prebiotic polymerization of nucleic acids, experiments (1-3) were conducted with a Ag<sup>+</sup>-mediated base pair on a cytidine monomer. (1) <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C NMR spectroscopic studies provided detailed insights into the 2:1 complex formation of the cytidine/Ag<sup>+</sup> systems. We also provided <sup>109</sup>Ag NMR spectroscopic evidence of the formation of [Ag(cytidine)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, which corresponds to a simple cytosine-Ag<sup>+</sup>-cytosine (C-Ag<sup>+</sup>-C) base pairing. (2) Cyclic voltammetry studies revealed that the C-Ag<sup>+</sup>-C base pairing makes it more difficult to reduce the captured Ag<sup>+</sup> ions. (3) Nanoparticle (NP) tracking analysis suggested that cytidine may act as a capping agent, inhibiting the growth of AgNPs and preventing AgNPs aggregation. From these observations, it can be suggested that the C-Ag<sup>+</sup>-C base pair can be useful in the formation of AgNPs, which can be used to catalyze chemical reactions.

研究分野：核酸関連化学

キーワード：メタロ塩基対 DNA RNA Agナノ粒子 NMR サイクリックボルタンメトリー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在の生命システムに至るまでの過程は謎に包まれている。化学進化仮説によれば、生命誕生以前の原始地球に存在したとされる単純な化合物から、少しずつ複雑な化合物がつくられ、タンパク質や核酸などの高分子が脂質膜に囲まれることで最初の生命の誕生につながったと考えられている。このような仮説を検証するために、様々な検証実験が行われ、データが蓄積されている。

原始地球の環境を模した検証実験において、ヌクレオチドのような構成単位から DNA や RNA が生成する過程に注目すると、現存する生命でみられるようなゲノム長の核酸分子の生成過程は未解決の難問となっている。このような難問を解くためには、既存の生命現象の枠をこえて核酸のもつ特性を調べる必要がある。本研究では、近年明らかになってきた核酸分子の隠れた特性である「メタロ塩基対形成」という観点から、生命誕生以前の原始地球における核酸分子の高分子量化を検証する。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、核酸分子の隠れた特性である「メタロ塩基対形成能」という観点から、生命誕生以前の原始地球における核酸分子の高分子量化について検証実験を行うことである。

はじめに、ヌクレオチド類のメタロ塩基対形成を介したポリヌクレオチド鎖の生成(核酸分子の高分子量化)を検証する前段階として、ヌクレオシドモノマーの  $\text{Ag}^+$  を介したメタロ塩基対形成について検証実験を行う。さらに、メタロ塩基対の酸化還元特性の解析も行う。次に、メタロ塩基対形成を利用したヌクレオチド類の連結反応(核酸分子の高分子量化)を検討する。

### 3. 研究の方法

$^1\text{H}/^{13}\text{C}/^{109}\text{Ag}$  NMR 分光法を利用して、シチジン/ $\text{Ag}^+$  (2:1) 錯体( $\text{Ag}^+$  を介したメタロ塩基対の最小単位)の構造解析を行なった。メタロ塩基対の酸化還元特性の解析には、サイクリックボルタンメトリー(CV)を利用した。また、化学的還元手法を用いて  $\text{Ag}^+$  を介したメタロ塩基対を還元することで、 $\text{Ag}$  ナノ粒子合成を検討した。得られた  $\text{Ag}$  ナノ粒子の総濃度/粒度分布の評価には、ナノ粒子トラッキング解析法を利用した。メタロ塩基対形成を利用したヌクレオチド類の連結反応には、反応性の高いヌクレオチドモノマー(3' - 5' 環状ヌクレオチド等)を利用した。鎖長の評価には電気泳動法を利用した。

### 4. 研究成果

$^1\text{H}/^{13}\text{C}$  NMR 分光法を用いた  $\text{Ag}^+$  イオン滴定実験により、シチジンモノマー(C)が  $\text{Ag}^+$  の配位子として働き、C- $\text{Ag}^+$ -C 塩基対 (図 1.,  $\text{Ag}^+$  を介したメタロ塩基対の最小構成単位) を形成することを実験的に証明した (*Dalton Trans.*, 2021, 50, 7633-7639.)。さらに、 $^{109}\text{Ag}$  NMR スペクトル測定から、C- $\text{Ag}^+$ -C 塩基対形成に伴い  $\text{Ag}^+$  の化学シフト値 ( $^{109}\text{Ag}$ ) が大きく低磁場シフトすることが明らかとなった ( $^{109}\text{Ag}$ : 180ppm)。この実験結果は、 $\text{Ag}^+$  が C- $\text{Ag}^+$ -C 塩基対を形成している直接的な証拠となる。また、分光学的にも希少な  $^{109}\text{Ag}$  NMR データである。

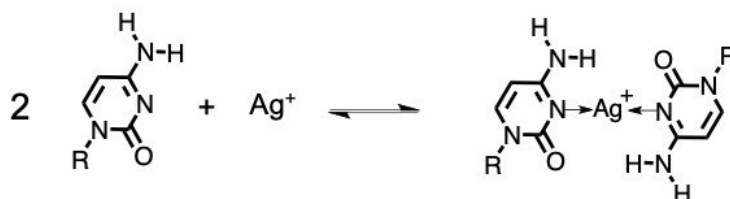


図 1. シチジンモノマー(C)が形成する  $\text{Ag}^+$  を介したメタロ塩基対

シチジン(C)/Ag<sup>+</sup>系のサイクリックボルタンメトリー(CV)測定の結果、Ag<sup>+</sup>を介した C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成が、Ag<sup>+</sup>/Ag の酸化還元電位に影響を及ぼすことが明らかとなった (図 2)。この結果は、C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成に伴い、Ag<sup>+</sup>が還元されにくくなることを示している。このような C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成の特性は、Ag<sup>+</sup>/Ag の酸化還元電位の制御に利用できる (*Dalton Trans.*, 2021, 50, 7633-7639.)。また、Ag<sup>+</sup>/Ag の酸化還元電位に及ぼす影響は、ヌクレオシド/Ag<sup>+</sup>系の中では、シチジン(C)/Ag<sup>+</sup>系が最も大きかった ( $E_{1/2}$  値: C/Ag<sup>+</sup> (-0.26 V) < G/Ag<sup>+</sup> (-0.17 V) < A/Ag<sup>+</sup> (-0.15 V) < T/Ag<sup>+</sup> (-0.11 V))。興味深いことに、この結果は、Ag<sup>+</sup>に対する結合親和性の序列と一致していた (C > G > A > T)。

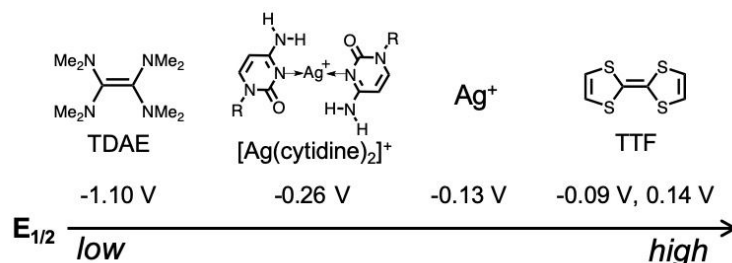


図 2. 酸化還元電位の比較

シチジン(C)/Ag<sup>+</sup>系の CV 測定の結果から得られた新たな知見「Ag<sup>+</sup>を介した C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成に伴い、Ag<sup>+</sup>が還元されにくくなる」という仮説を化学的還元手法にて検証した。還元剤としてテトラチアフルバレン(図 2, TTF)を用いて、Ag<sup>+</sup>との酸化還元反応により生じるカチオンラジカル(TTF<sup>•+</sup>)を紫外可視分光法により検出した。C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成に伴い、カチオンラジカル(TTF<sup>•+</sup>)の生成が抑えられ、C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対中に内包される Ag<sup>+</sup>が還元されにくくなることが実験的に示された。

「C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対中の Ag<sup>+</sup>を還元する」という発想は、Ag ナノ粒子合成へと応用できる。さらに、C-Ag<sup>+</sup>-C の酸化還元電位は、C-Ag<sup>+</sup>-C を利用した Ag ナノ粒子合成のための還元剤の選択に有用な指標となる (図 2)。テトラキス(ジメチルアミノ)エチレン(TDAE)を C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対の還元剤として用いると、TTF を還元剤として用いた場合と比較して、溶液中の Ag ナノ粒子濃度が約 100 倍となった。さらに、<sup>15</sup>N NMR 分光法を用いて TDAE と C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対の酸化還元反応で生じる TDAE<sup>2+</sup>を分光学的に検出した(図 3)。

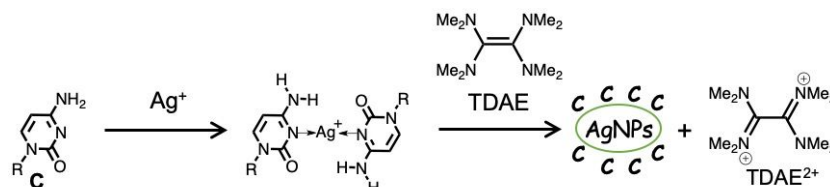


図 3. TDAE を用いた C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対の還元

ナノ粒子トラッキング解析法を用いて、得られた Ag ナノ粒子の粒度分布を評価したところ、シチジンには Ag ナノ粒子の凝集を抑える効果があり、Ag ナノ粒子の粒度分布の制御にも利用できる可能性があることが示唆された (*Dalton Trans.*, 2021, 50, 12208-12214)。この発見は、ヌクレオチドモノマーであるシチジンがメタロ塩基対形成を経由することで、化学反応の触媒となりうる物質である Ag ナノ粒子の形成に関与できることを示唆するものである。

ヌクレオチドモノマーを用いたメタロ塩基対間で期待されるスタッキング相互作用は、ヌクレオチド分子同士を引き合わせる相互作用であり、核酸分子の連結反応(ポリヌクレオチド鎖の生成)の鍵要素となりうる特性である。このような観点から、メタロ塩基対形成を利用したヌクレオチド類の連結反応について検討中である。反応性の高いヌクレオチドモノマー(3'-5'環状ヌクレオチド等)を利用し、電気泳動法を用いて鎖長の評価を行っている。また、C-Ag<sup>+</sup>-C 塩基対形成を経由して生じる Ag ナノ粒子の触媒的な効果についての評価も検討中である。今後、本研究において、メタロ塩基対形成を経由する化学反応と化学進化との関連が明らかとなれば、生命誕生の謎を解き明かすための関門の 1 つを突破するための新たな鍵となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takenori Dairaku, Rika Kawai, Teppei Kanaba, Tetsuya Ono, Kentaro Yoshida, Hajime Sato, Kanako Nozawa-Kumada, Yoshinori Kondo, Jiro Kondo, Akira Ono, Yoshiyuki Tanaka and Yoshitomo Kashiwagi.	4. 巻 50
2. 論文標題 Effect of cytosine-Ag+-cytosine base pairing on the redox potential of the Ag+/Ag couple and the chemical reduction of Ag+ to Ag by tetrathiafulvalene	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 7633-7639
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d1dt00975c.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takenori Dairaku, Rika Kawai, Kanako Nozawa-Kumada, Kentaro Yoshida, Tetsuya Ono, Yoshinori Kondo, Jiro Kondo, Akira Ono, Yoshiyuki Tanaka, Yoshitomo Kashiwagi.	4. 巻 50
2. 論文標題 Chemical reduction of Ag+ to Ag employing organic electron donors: evaluation of the effect of Ag+-mediated cytosine-cytosine base pairing on the aggregation of Ag nanoparticles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 12208-12214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D1DT01927A	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大樂 武範
2. 発表標題 Evaluation of the effect of Ag+-mediated cytosine-cytosine base pairing on the aggregation of Ag nanoparticles
3. 学会等名 令和3年度化学系学協会東北大会 物理化学セッション
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------