



研究課題名 非環状型人工核酸による人工遺伝システムの創成とその進化分子工学への応用

名古屋大学・予防早期医療創成センター・教授

あさぬま ひろゆき

浅沼 浩之

研究課題番号： 21H05025

研究者番号： 20282577

研究期間： 令和3年度～令和7年度 研究経費（期間全体の直接経費）： 146,500千円

キーワード： Pre-RNA ワールド仮説、L-aTNA、化学ライゲーション、生命の起源

【研究の背景・目的】

RNA ワールド仮説が広く受け入れられてから、原始地球環境下での RNA の合成と RNA 鎖の自己複製を、原始地球下を想定した環境で化学的に再現する研究が開始された。しかしリボヌクレオチドの合成から自己複製までを非酵素的に原始地球環境下で実現するのは決して容易なことではない。そこで RNA より前に構造が単純な原始核酸（≒人工核酸）の Pre-RNA が存在し、その後 RNA への遺伝物質としての役割の委譲が行われたという、Pre-RNA ワールド仮説も唱えられるようになった。しかし Pre-RNA の条件を満たす人工核酸が無かったため、Pre-RNA ワールド仮説は停滞していた。

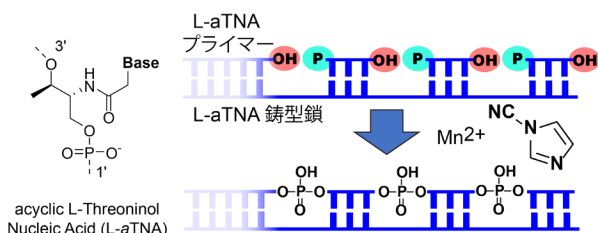


図1 L-aTNA の化学ライゲーション

代表者の浅沼らは、独自に様々な非環状型人工核酸を開発してきた。中でも L-aTNA は DNA および RNA を認識し、さらにごく最近、金属イオンとシアノイミダゾールを使用することで、天然のリガーゼを凌駕する極めて効率的な化学ライゲーションが可能なることを見出し、L-aTNA を鋳型鎖に用いた L-aTNA のプライマー伸長反応を非酵素的に実現した。そこで本申請では、まず自己複製（増幅）・転写・逆転写という人工遺伝システムを L-aTNA で非酵素的に実現する。すなわち L-aTNA を“ゲノム”に見立て、化学ライゲーションによる 1) L-aTNA 鎖の鋳型依存的複製（自己複製・自己増幅）、2) L-aTNA 鎖→DNA (RNA) 鎖への“転写”、3) DNA (RNA) 鎖→L-aTNA 鎖への“逆転写”を実現する。このような人工遺伝システムが実現すれば、DNA のシーケンシングを通じて間接的に L-aTNA 配列の解読が可能になる。さらに PCR 増幅後の DNA を L-aTNA に逆転写すれば、人工核酸でも DNA ワールドと同様の進化分子工学が可能になる。そこで人工遺伝システムの応用の一環として、DNA の進化分子工学を模倣した、L-aTNA 人工アプタマーの取得へと展開する。

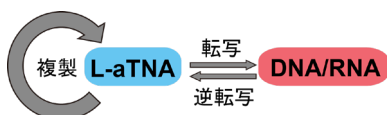


図2 本研究で目指す人工遺伝システム

【研究の方法】

まず L-aTNA の鋳型依存的自己複製を実現する。配列をランダムにさせた L-aTNA3 量体の混合溶液を使用して、L-aTNA オリゴマーの鋳型鎖依存的複製を実現し、次に L-aTNA 鎖のサーマルサイクルによる自己増幅を検討する。

後述する L-aTNA アプタマー調製を視野に入れ、まずは L-aTNA 配列の DNA(RNA)配列への“転写”を目指す。そのため、-OH の求核性を促進させるような、塩基触媒能を持つ金属イオンや錯体を検討する。DNA への転写が可能になれば、L-aTNA の配列情報をシーケンサーで解読することが可能になる。

L-aTNA3 量体を基質に用いて DNA および RNA 鋳型鎖上で、自己複製と同様に L-aTNA 3 量体のランダムプールを使用した、非酵素的 DNA(RNA)→L-aTNA 逆転写反応を実現する。

人工遺伝システムが実現すれば、DNA ワールドと同様の進化分子工学の適用が可能になる。そこで L-aTNA のランダムライブラリーから標的分子に結合する L-aTNA 鎖を釣り上げ、これを DNA(RNA)に転写して PCR 増幅し、続いて L-aTNA 鎖に逆転写する。この進化サイクルを繰り返すことで、次世代シーケンサーで転写後の DNA 配列を読み取ることで、L-aTNA アプタマーを取得する。

【期待される成果と意義】

図2の人工遺伝システムが実現すれば、Pre-RNA ワールド仮説のシナリオに適した原始核酸の存在が L-aTNA で初めて実証されることになり、生命の起源研究に大きく貢献できる。また L-aTNA は毒性が低いことが明らかになりつつあり、核酸医薬としても有望である。L-aTNA アプタマーが取得できれば、新たな核酸医薬としての応用も期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ K. Murayama, H. Kashida, H. Asanuma, Acyclic L-Threoninol Nucleic Acid (L-aTNA) with Suitable Structural Rigidity Cross-pairs with DNA and RNA., *Chem. Commun.*, **51**, 6500-6503(2015).
- ・ K. Murayama, H. Okita, T. Kuriki, H. Asanuma, Nonenzymatic polymerase-like template-directed synthesis of acyclic L-threoninol nucleic acid, *Nat. Commun.*, **12**, 804(2021).

【ホームページ等】

<http://www.chembio.nagoya-u.ac.jp/labhp/bioanal3/index.html>