

## 生命の起源は人工核酸 XNA? ～人工核酸の非酵素的鎖伸長法の開発～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院工学研究科の村山 恵司 助教、沖田 ひかり 博士前期課程学生、浅沼 浩之 教授らの研究グループは、人工的な核酸を酵素を用いずに配列複製する新たな手法の構築に成功しました。

現在地球に存在する生命は、DNA、RNA、タンパク質といった多様な生体分子が関与する複雑なシステムを利用しながら活動しています。一方、原始地球においては RNA だけで自己複製や機能発現を実現する RNA world が存在し、更にその前には RNA より単純な構造の“原始核酸：XNA”が存在していたという Pre-RNA world 仮説が提唱されています。しかし、“原始核酸”として相応しい XNA は未だ見つかっておらず、Pre-RNA world 仮説は広くは受け入れられていませんでした。我々はこれまでに“原始核酸”の候補として L-aTNA (*acyclic L-threoninol nucleic acid*) を報告しています。今回の研究では、有機小分子と金属イオンだけを用いて、L-aTNA をあたかも酵素反応のように配列複製できることを見出しました。この結果は、原始地球では L-aTNA が“原始核酸”として存在していたという可能性を示唆しており、Pre-RNA world 仮説を支持する結果です。更に、この配列複製技術を拡張することで、有用な L-aTNA 配列をスクリーニングすることが可能となりますので、特定の分子にのみ選択的に作用する新たな核酸医薬や核酸ツール開発への応用が期待できます。

この研究成果は、2021年2月5日付 英国科学雑誌 Nature Communications オンライン版に掲載されました。

本研究は、AMED『先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業』、基盤研究 A、若手研究、公益財団法人立松財団の助成を受けたものです。

### 【ポイント】

- ・人工核酸 L-aTNA の断片を非酵素的に連結し、鋳型配列に相補的な L-aTNA 配列を選択的に合成する複製反応に成功した。
- ・Pre-RNA world の存在を支持し、L-aTNA が“原始核酸”の候補であることが明らかとなった。
- ・L-aTNA を遺伝情報とする人工生命の開発や L-aTNA ベースの核酸医薬や核酸ツール開発への応用が期待される。

### 【研究背景と内容】

DNA は遺伝情報の担い手であり、その情報は4種類の核酸塩基 AGCT の配列に集約されています。生命はタンパク質や核酸が関わる様々な酵素反応を巧みに利用することで、自身の DNA 配列情報の複製、DNA から RNA への配列情報の転写、RNA からタンパク質への翻訳といったセントラルドグマを介して生命活動や繁殖を実現しています。では、原始地球においてはどうだったのでしょうか。原始地球環境においては RNA 自身が酵素反応を担い、RNA だけで自己複製や機能発現を実現していたという RNA world 仮説が提唱されています。しかし、RNA の骨格は環状構造であるため立体選択的な合成が難しく、原始地球に最初に存在していたかについては疑問視されてきました。これを踏まえ、RNA world 以前には RNA とは異なる、より単純な構造の“原始核酸：XNA”が存在していたという Pre-RNA world 仮説も可能性の一つとして挙げられています(図1)。Pre-RNA world 仮説に適合する XNA は、1) RNA よりも構造が単純である、2) RNA と二重鎖形成が可能である (RNA へ配列情報の伝達が可能)、3) 酵素に頼らずに自己複製が実現できる、という条件を満たさなければなりません。しかし、これら全ての条件を満足する XNA はこれまで見つかっていなかったため、Pre-RNA world 仮説の研究は停滞していました。

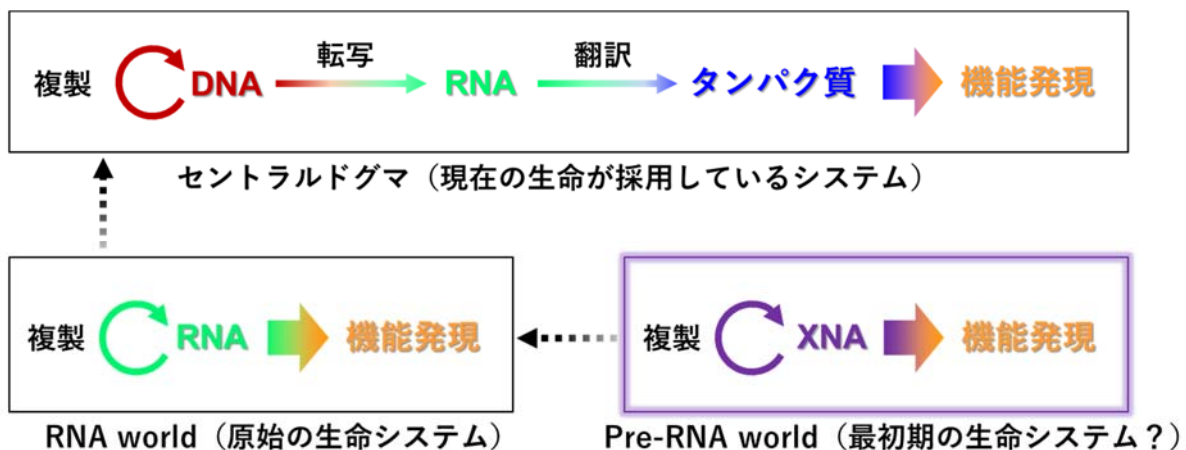


図1. 生命システムの概略図： 現在の生物はセントラルドグマを利用しているが、原始地球においては RNA world や Pre-RNA world といった核酸だけの世界だったという説が提唱されている。

我々はこれまでに新たな XNA として L-aTNA (*acyclic* L-threoninol nucleic acid, 図2)を開発しています。L-aTNA は天然アミノ酸である threonine に類似の構造を持ち、非環状の骨格であることから合成が極めて容易です。更に、L-aTNA は相補的な RNA とも安定な二重鎖を形成することを見出しています。以上のように L-aTNA は、“原始核酸”に求められる 1) と 2) の条件を満たしています。

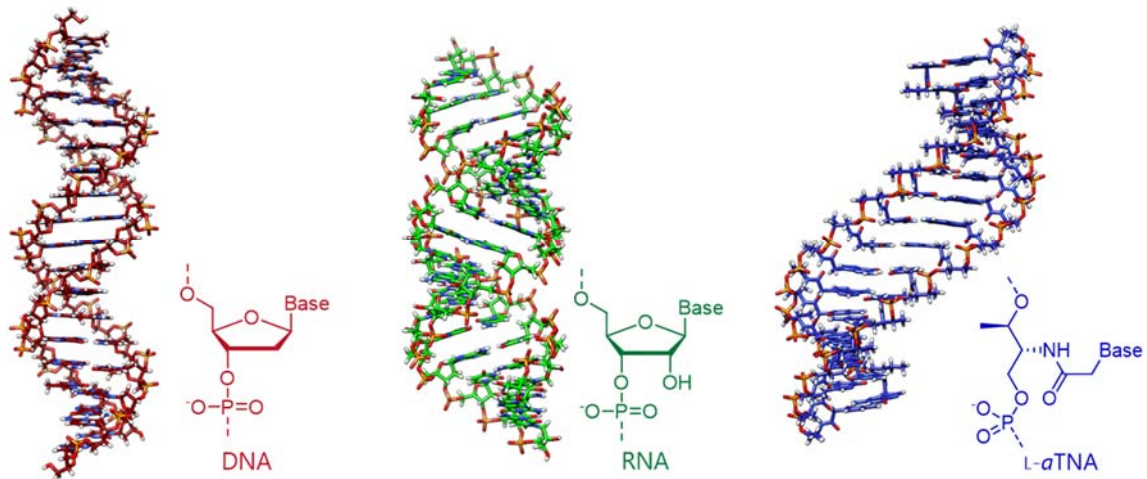
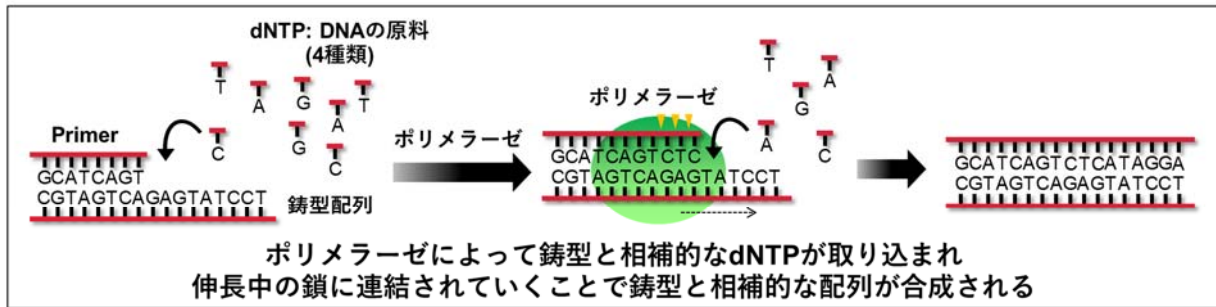


図2. 天然核酸 DNA・RNA と人工核酸 L-aTNA の化学構造と立体構造モデル

今回の研究では、3) の条件達成を目指し、L-aTNA の非酵素的な配列複製に挑戦しました。その結果、*N*-cyanoimidazole という極めて単純な構造の有機小分子と金属イオンを用いることで、3-mer のランダムな L-aTNA 配列プールを原料にして、鋳型配列に相補的な L-aTNA 配列を合成する複製反応を非酵素的に実現することに成功しました(図3)。24 h 反応後の収率は 70%以上であり、副反応もほとんど確認されませんでした。L-aTNA の骨格が連結反応に適した構造であり、DNA や RNA に比べて極めて効率的に反応が進行することで、短い断片の逐次的な連結が可能であったために実現できたと考えられます。以上のように、L-aTNA は“原始核酸”としての必要条件を満たすことが明らかとなり、Pre-RNA world の存在を支持する結果が得られました。

### 従来法) ポリメラーゼによるDNAの配列複製反応



### 本手法) L-aTNAの非酵素的配列複製反応

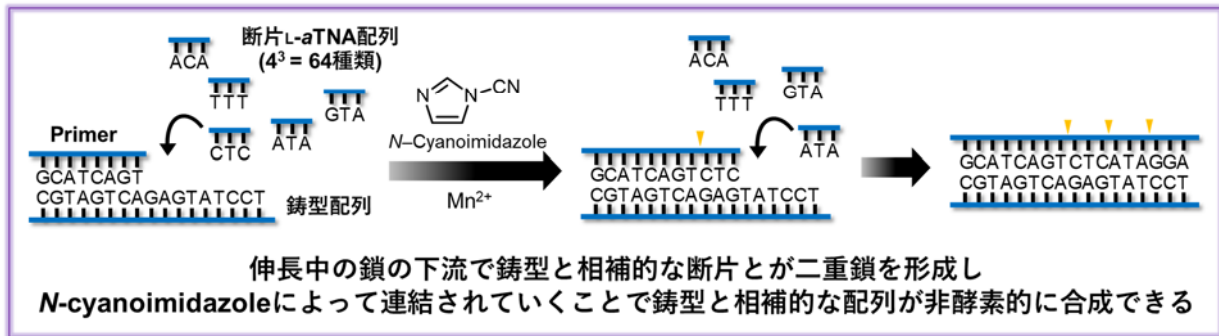


図3. 天然核酸であるDNAの配列複製は酵素であるポリメラーゼによって実現している。今回開発したL-aTNAの配列複製法においては酵素を用いず、N-cyanoimidazoleと金属イオン存在下で進行する。

### 【成果の意義】

本研究で開発に成功した人工核酸 L-aTNA の非酵素的な配列複製は、原始地球での Pre-RNA world の存在を支持するだけでなく、人工生命モデルとしても重要な意味があります。更に、この手法を拡張させて L-aTNA の鋳型配列から DNA を合成することができれば、L-aTNA の配列情報を解析することが可能になります。すなわち、莫大な L-aTNA 配列のランダムライブラリの中から有用な配列をスクリーニングする *In vitro selection* 法への応用が可能となりますので、特定の分子にのみ選択的に作用する核酸医薬や核酸ツールの開発速度の大幅な向上が見込まれます。

### 【用語説明】

セントラルドグマ： 遺伝情報は DNA から RNA、RNA からタンパク質へと一方向に流れるという概念。

XNA(人工核酸)： DNA、RNA の天然核酸を構成するリン酸、糖、核酸塩基のうち、リン酸あるいは糖部分の骨格が天然とは異なる化学構造をもつ人工的な核酸分子。核酸分解酵素に対する耐性を持つことから、核酸医薬の候補として近年盛んに研究されている。

L-aTNA： 主鎖骨格にアミノ酸 L-threonine の類似構造を持つ人工核酸。相補的な L-aTNA と極めて強く二重鎖形成し、DNA や RNA とも結合し二重鎖を形成できる。

*N*-cyanoimidazole : 脱水縮合剤の一つ。近傍のリン酸基と水酸基を連結しリン酸ジエステル結合を生成する。

鋳型配列 : 複製の際にお手本となる配列。合成される配列は鋳型配列に対して相補的になる。

*In vitro selection* 法 : 膨大な種類の核酸配列ライブラリの中から、特定の物質と強く結合する核酸配列を探し出す手法。配列解析とライブラリ再構築の過程で配列複製が求められる。

#### 【論文情報】

雑誌名 : Nature Communications

論文タイトル : Nonenzymatic polymerase-like template-directed synthesis of acyclic L-threoninol nucleic acid

著者 : Keiji Murayama\*(名大院工), Hikari Okita(名大院工), Takumi Kuriki(名大院工), and Hiroyuki Asanuma\*(名大院工)

DOI: 10.1038/s41467-021-21128-0