

グアニン四重らせん構造のループ領域に着目したフォールディング機構の解明

○中田実紀・小坂直暉・三好大輔（甲南大 FIRST）

Kinetic analysis of DNA G-quadruplexes folding with structured loop regions (Graduate school of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology, Konan University) NAKATA, Minorji; KOSAKA, Naoki; MIYOSHI, Daisuke

グアニンに富む核酸鎖は、グアニン四重らせん構造(G4)を形成する。G4は4つのグアニンがHoogsteen塩基対によって結合したもの(G-quartet)が積層することで形成される。G4形成には中心部分にカチオンの配位が必須であり、 K^+ や Na^+ 存在下で高い熱安定性を示す。G4が同定されて以降、主にヒトテロメアで形成されるG4配列を用いて、立体構造やその熱安定性、さらには低分子化合物との相互作用に関する研究が行われてきた。これらの研究により、G4は塩基配列、共存するカチオン種類、小分子の結合などによって鎖の配向性が変化し、複製・転写における調節的役割を果たすことが明らかになりつつある。^{1,2)} このように、G4の構造および熱力学的側面における研究は多く行われている。一方でG4のフォールディング機構については、速度論的な検討が行われているものの、未だ統一的な見解は得られていない。

G4のフォールディング機構を速度論的に検討することは、G4の複雑な形成経路に生じる中間体の存在を明らかにすることができる。さらに、フォールディングに必要なタイムスケールを決定することは、小分子やタンパク質などによってG4のフォールディングがどのように調節されているか、また生物学的反応のスケールに相当しているかを明らかにするためにも重要である。これまでの速度論的な研究は主にヒトテロメア配列を用い、高速反応装置や分光器を使用して行われてきた。MDシミュレーションにより、Gヘアピン→Gトリプレックス→G4の順に形成されることが提唱された。³⁾ (Fig. 1) 現在までの研究からは、G4はGヘアピンを核とし、様々な中間体を経由してミリ秒から数分単位でフォールディングすることが示唆されている。さらに近年、ループ領域が構造化されているG4（ヘアピンG4）が、構造化されていないG4よりも速くフォールディングすることが示された。⁴⁾ ヘアピンG4は遺伝子のプロモーター領域に局在しているため、生物学的にも意義のある要素である。

そこで本研究では、ループ領域の構造に着目し配列を系統的に変化させることでG4のフォールディング速度に

及ぼす効果を検討した。その結果、ループ領域を不安定にさせた配列やヘアピンループ構造を形成しない配列では、ヘアピンを形成している配列と比べ速度定数が著しく小さくなることが示された。これらの結果から、ループ領域の構造がG4のフォールディングにとって重要であることが示された。

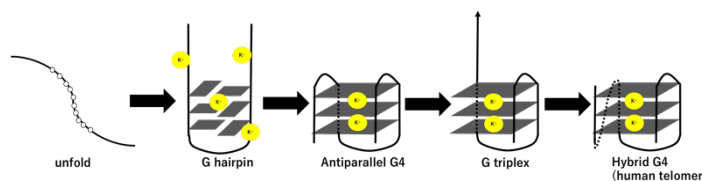


Fig. Proposed pathway of human telomere G4 formation.

- 1) D. Sen, *et al.*, *Nature* **344**, 410-414 (1990).
- 2) M. Kim. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 2098-2099 (2002).
- 3) T. Mashimo, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 14910-14918 (2010).
- 4) T. Q. N. Nguyen, *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **124**, 5122-5130 (2020).