

グアニン四重らせん構造のフォールディング速度に対するループ領域の影響

○中田実紀・小坂直暉・三好大輔（甲南大 FIRST）

The Effects of Loop Region on the Folding Kinetics of G-quadruplexes (Frontiers of Innovative Research in Science and Technology, Konan University) NAKATA, Minori; 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)にカチオンが配位し、それらが積層することで熱力学的に安定化する¹⁾。これまでに、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構造が変化し、複製、転写、翻訳における調節的役割を果たすことが示されている²⁾。一方でG4のフォールディング機構については、主に速度論的手法を用いた検討が現在も続けられており、未知な部分が多く残されている。

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、細胞内での生物学的反応との関与を裏付け、ひいてはそのような反応を制御するための創薬研究にとっても重要である。これまでに、フォールディングの研究は主にヒトテロメアDNA G4を対象に行われてきた。シミュレーションや実験的検討から、ヒトテロメアのハイブリッド型G4がGヘアピン→アンチパラレル型G4→Gトリプレックス→G4の順に形成されることが提唱されている(Fig. 1)^{3,4)}。さらに興味深いことに、G4のループ領域(グアニンの連続する領域を連結する領域)が、G4構造の鎖配向や熱安定性、小分子との結合能にも重要であることが明らかにされつつある^{5,6)}。このようにループ領域のG4構造における重要性は高まりつつあるが、G4のフォールディングにおけるループ領域の役割は未だ検討されていない。

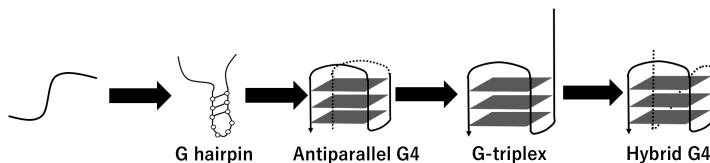


Fig. 1 Proposed pathway of human telomere G4 formation.

そこで本研究では、ループ領域の配列を系統的に変化させ、G4構造全体の熱安定性やフォールディング速度との相関関係を定量的に解明することを目的とした。特にループ内の二次構造に着目し、ループ内に種々のステム長をもつヘアピン構造を形成するG4配列を設計し、ヘアピンを形成しないG4と比較した。また、ヘアピンの熱力学的安定性を系統的に変化させて、G4の熱安定性やフォールディング速度との相関を検討した。その結果、ループ内にヘアピンを形成しない配列、不安定なヘアピン配列、ヘアピンの相補鎖を添加した場合には、安定なヘアピンを形成するG4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過程における核形成サイトとなり、G4全体のフォールディング速度や熱安定性を決定する重要因子として機能することが示唆された。

- 1) D. Sen, *et al.*, *Nature* **344**, 410-414 (1990).
- 2) J. Spiegel, *et al.*, *Trends Chem.* **2**, 123-136 (2020).
- 3) T. Mashimo, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 14910-14918 (2010).
- 4) R. D. Gray, *et al.*, *J. Mol. Biol.* **426**, 1629-1650 (2014).
- 5) K. W. Lim, *et al.*, *Biochemistry* **53**, 247-257 (2014).
- 6) M. Yang, *et al.*, *Nucleic Acids Res.* **49**, 7856-7869 (2021).