デングウイルス RNA ゲノム中の 4 本鎖核酸形成可能な新規配列に関する解析

(東京理科大学理¹・獨協医科大学医²・近畿大院理工³) ○石井 洸¹・石川 知弘²・島本 茂³・鳥越 秀峰¹

Study on Novel Sequences to Form Quadruplex Nucleic Acids in Dengue Virus RNA Genome (¹Graduate School of Science, Tokyo University of Science, ²Graduate School of Medicine, Dokkyo Medical University, ³Graduate School of Science and Engineering, Kindai University) ○Hikaru Ishii,¹ Tomohiro Ishikawa,² Shigeru Shimamoto,³ Hidetaka Torigoe¹

During the computer analyses of the base sequences of Dengue virus RNA genome, we found two G-rich sequences, Samp1 and Samp2, in the envelope-protein coding region. We have examined the possibility of the two G-rich RNA sequences and the corresponding DNA sequences, Samp1DNA and Samp2DNA, to form quadruplex nucleic acids. Native gel electrophoresis and fluorescence intensity change upon the addition of thioflavin T showed their formation of the quadruplex. CD spectra showed that Samp1, Samp2, and Samp2DNA formed a parallel quadruplex and Samp1DNA formed an antiparallel quadruplex.

Keyword : Circular Dichroism; Dengue Virus; Fluorescence Intensity; Native Gel Electrophoresis; Quadruplex Nucleic Acids

デングウイルスはデング熱の原因ウイルスであり、1 本鎖 RNA ゲノムを有する。デングウイルスの RNA ゲノムの塩基配列をコンピューター解析したところ、エンベロープ蛋白質をコードする領域内で G 塩基を豊富に有する、4 本鎖核酸構造を形成し得る 2 箇所の塩基配列、Samp1: r(GGAUGGGGAAAUGGAUGUGG), Samp2: r(GGGGGCGAAGAG AAUGGCCAUUUUAGGUGACACAGCCUGGG)を見出した。Samp1, Samp2 やこれらに該当する DNA の塩基配列、Samp1DNA: d(GGATGGGGAAATGGA TGTGG), Samp2 DNA: d(GGGGGCGAAGAGAATGGCCATTTTAGGTGACACAGCCT GGG)を 10 mM カコジル酸-カコジル酸ナトリウム、100 mM KCl₄ 中、90°C で 10 分間加熱後、室温まで徐冷し、これらが 4 本鎖核酸構造を形成するかを解析した。

Samp1, Samp2, Samp1DNA, Samp2DNA いずれのアニーリング後の産物も、未変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動で、単鎖核酸以外に 4 本鎖核酸由来と考えられるバンドを与えた。これらにチオフラビン T を添加すると、チオフラビン T 単独よりも顕著に高い蛍光強度を与え、4 本鎖核酸形成を示唆した。これらの CD スペクトルを測定すると Samp1, Samp2, Samp2DNA は平行型 4 本鎖核酸に特徴的なスペクトルを与え、Samp1DNA は反平行型 4 本鎖核酸に特徴的なスペクトルを与えた。

一連の変異を下線部に導入した塩基配列、Samp1MIS7: r(GUAUUUUUAAAUGUA UGUGU), Samp2MIS8: r(GUUUUUUCGAAGAGAAUGUCCAUUUUAGUUGACACAGC CUGU), Samp1MIS7DNA: d(GIATTTTTAAATGIATGTG), Samp2MIS8DNA: d(GTTT TTCGAAGAGAATGICCATTTTAGTTGACACAGCCTGIG)の同様のアニーリング後の産物は、未変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動で、4 本鎖核酸由来と考えられるバンドは消失し、チオフラビン T を添加しても高い蛍光強度は与えられず、CD スペクトルで、4 本鎖核酸に特徴的なスペクトルは消失した。下線部の塩基が 4 本鎖核酸形成に関与すると考えられた。