

2023 年度  
創発的研究支援事業 年次報告書

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| 研究担当者  | 村山恵司                           |
| 研究機関名  | 名古屋大学                          |
| 所属部署名  | 大学院工学研究科                       |
| 役職名    | 助教                             |
| 研究課題名  | 人工核酸の自己複製・翻訳反応の開発と分子進化法への応用    |
| 研究実施期間 | 2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日 |

### 研究成果の概要

人工核酸 L-aTNA の自己複製反応の実現に向け、L-aTNA の非酵素的鎖伸長反応の高効率化を検討した。N-シアノイミダゾールと二価の金属イオンによる鎖連結反応のメカニズム解析を詳細に行った結果、連結されるリン酸基が N-シアノイミダゾールによって活性化される段階が律速段階であることを明らかにし、また、その活性化速度は金属イオン種に依存して大きく変化することが確認された。中でも 2 価のカドミウムは鎖連結反応を大幅に加速し、マンガンを用いる従来法に比べ 10 倍程度の反応速度定数の増加が見られた。更に、リン酸基の局所構造も反応速度に影響することが示唆され、鑄型鎖と二重鎖形成している L-aTNA プライマー鎖の 3' 末端にリン酸基が結合している場合に最も反応が速いことが確認された。得られたこれらの知見を統合し、金属イオン及び伸長方向を最適化した条件で L-aTNA の非酵素的鎖伸長を行った。過去に報告した手法では 9 残基の伸長が 24 時間で 75%程度にとどまっていたが、今回最適化した手法を用いた結果、21 残基の伸長がわずか 2 時間で 60%程度進行することが確認され、長鎖 L-aTNA の高効率な鎖伸長反応の開発に成功した(*J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, *145*, 17872-17880. DOI: 10.1021/jacs.3c04979)。この鎖連結反応は DNA 鎖の化学的連結にも適用することが可能であり、DNA ナノ構造体の鎖連結による強靱化や、ボトムアップ式の人工遺伝子合成など、幅広い応用展開が期待される。