

生細胞中の核酸のダイナミクスに光を当てる

—生細胞中における挙動は試験管中とは異なる—

概要

京都大学エネルギー理工学研究所 片平正人 教授、永田崇 同准教授、山置佑大 同助教らの研究グループは、核酸の塩基対のダイナミクスが、ヒト生細胞中においては試験管中とは異なることを見出しました。

ヒトの生細胞中にはタンパク質、核酸等が1L当たり400gも詰まっており、とても混み合っています。一方、通常の実験は試験管中の希薄な水溶液下で行われるため、生体分子本来の挙動を見誤ってしまう恐れがあります。本研究では生細胞中の核酸のNMR^{*1}シグナルを直接観測するインセルNMR法^{*2}によって、生細胞中における核酸のダイナミクスに光を当てました。その結果、核酸の塩基対は、ヒト生細胞中においては試験管中よりも頻繁に開くことを見出しました。タンパク質との非特異的な相互作用がこの原因であることも分かりました。

核酸の塩基対が頻繁に開くことは、遺伝子の発現、ひいては様々な生命現象に影響を与えている可能性があります。またこのことは、RNAワクチン等の核酸医薬を開発する際にも考慮すべき新知見です。

本成果は、2022年11月29日に国際学術誌「Nature Communications」のオンライン版に掲載されました。

生きた細胞をNMRで調べると…？
DNAらせん構造中の塩基対がダイナミックに開閉していることがわかりました！

従来は試験管の中でDNAのみを測定していました。

細胞を生きたままNMRに入れて実験が終わるまで生かし続ける工夫をしました。

結論

(1) 生細胞中で塩基対がダイナミックに開閉していることがわかりました。

(2) 試験管中よりも生細胞中のほうが開閉の頻度が高いことがわかりました。

今後の展開
開いた塩基対に働きかける分子をデザインすることで、**新しい核酸医薬開発の可能性**があると考えられます。

タイトル: Shedding light on the base-pair opening dynamics of nucleic acids in living human cells
(ヒト生細胞中における核酸塩基対の開閉ダイナミクスに光を当てる)
著者: Yamaoki, Y., Nagata, T., Kondo, K., Sakamoto, T., Takami, S. and Katahira, M.
掲載誌: Nature Communications DOI: 10.1038/s41467-022-34822-4
イラストレーション: Hayanon, Science Manga Studio (2022)

概要図 細胞を生きたままインセルNMR法で解析した結果、生細胞中の核酸の塩基対は試験管中よりもダイナミックで、高い頻度で開閉していることがわかりました。これは、生命現象の理解と核酸医薬の開発に役立つ新知見です。

1. 背景

ヒトの生細胞中にはタンパク質、核酸等が1L当たり400gも詰まっており、とても混み合っています。一方、通常の実験は試験管中の希薄な水溶液下で行われるため、生細胞中における生体分子本来の挙動を見誤ってしまう恐れがあります(図1)。片平教授らのグループは2018年に、ヒト生細胞中の核酸のNMRシグナルを直接観測すること(インセルNMR法)に世界で初めて成功しました。これを契機として、インセルNMR法を用いて生細胞中における核酸の構造を解析することが世界的に盛んに行われてきました。一方、遺伝子の発現は、核酸の構造のみならず塩基対の開閉挙動のようなダイナミクスの影響を受けます。しかし、生細胞中における核酸のダイナミクスに関する情報はこれまで得られていませんでした。本研究では、インセルNMR法によって、この点に光を当てました。

2. 研究手法・成果

片平教授のグループが開発した、ヒト生細胞中の核酸に関するインセルNMR法を駆使することで、塩基対の開閉のダイナミクスに関する情報が得られました。塩基が有するイミノプロトン(NH)は、塩基対が開いた時(概要図及び図2)のみ溶媒の水のプロトンと化学交換します。この性質を利用して、化学交換の速度をインセルNMR法によって求めることで、塩基対が開く頻度を決定しました。その結果、核酸の塩基対は、ヒト生細胞中においては試験管中よりも頻繁に開くことを見出しました(図2)。すなわち、混雑した生細胞中と希薄な試験管中とでは、核酸のダイナミクスに違いがあることが明らかとなりました。さらに、核酸と細胞内のタンパク質との非特異的な相互作用がこの違いを生み出していることも分かりました。

核酸の塩基対が開くことは、立体構造が別の構造に遷移したり、特異的なタンパク質がこの核酸を認識するきっかけとなります。従って塩基対が頻繁に開くことは、遺伝子の発現、ひいては様々な生命現象に影響を与えている可能性があります。今回、生細胞中の核酸のダイナミクスに初めて光が当てられ、試験管中におけるダイナミクスとの違いが示されたことは、生細胞中における基本的な生命現象の理解の一助となると考えられます。また、生細胞中においては塩基対がこれまで考えられていたよりも頻繁に開くことが分かりましたので、開くことで露出する塩基を標的とした低分子化合物を開発し、遺伝子の発現を調節する薬剤として機能させるという戦略も今後は考えられます。今回の知見は、RNAワクチン等の核酸医薬を開発したり、その動作原理を理解する際に考慮すべきポイントとなります。

3. 波及効果、今後の予定

混雑した生細胞中と希薄な試験管中とでは、生体分子(タンパク質、核酸)の挙動(構造、ダイナミクス、相互作用等)が異なることが予想されてきましたが、今回実際に核酸のダイナミクスに違いがあることが実証されたインパクトは大きいと思われます。今後は生細胞中と試験管中における相互作用の違いを検証し、基本的な生命現象をより深く理解しようとする研究が多く行われると予想されます。その際に、インセルNMR法は中心的な解析手法であり続けると期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業(20H03192, 20K21477, 21H05519, 22H05596, 17H05878, 20K06524, 19K16054, 22K05314)、AMED(20fk0410027, 22fk0410048, 22ak0101097)の支援を受けて行われました。

<用語解説>

※1 **NMR**: Nuclear Magnetic Resonance(核磁気共鳴)の略。病院における MRI と同様な原理・装置。

※2 **インセル NMR 法**: 生細胞中のタンパク質分子や核酸分子の NMR シグナルを直接観測し、構造、ダイナミクス及び相互作用を解析する方法。

<研究者のコメント>



(左より片平正人 教授、永田崇 准教授、山置佑大 助教)

インセル NMR 法は、生きた細胞中における生体分子の構造・ダイナミクス・相互作用を分子・原子レベルの分解能でリアルタイムに解析できる優れた方法論だと思います。私は核酸分子に愛着を持っており、研究者人口がより多いタンパク質においては得られていない新しい知見を、核酸に関して本法によって獲得したいと思ってきました。今回それが達成されたことを、うれしく思っています(片平正人)。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Shedding light on the base-pair opening dynamics of nucleic acids in living human cells

(ヒト生細胞中における核酸塩基対の開閉ダイナミクスに光を当てる)

著 者：Yamaoki, Y., Nagata, T., Kondo, K., Sakamoto, T., Takami, S. and Katahira, M.

掲 載 誌：Nature Communications DOI：10.1038/s41467-022-34822-4

< 参考図表 >

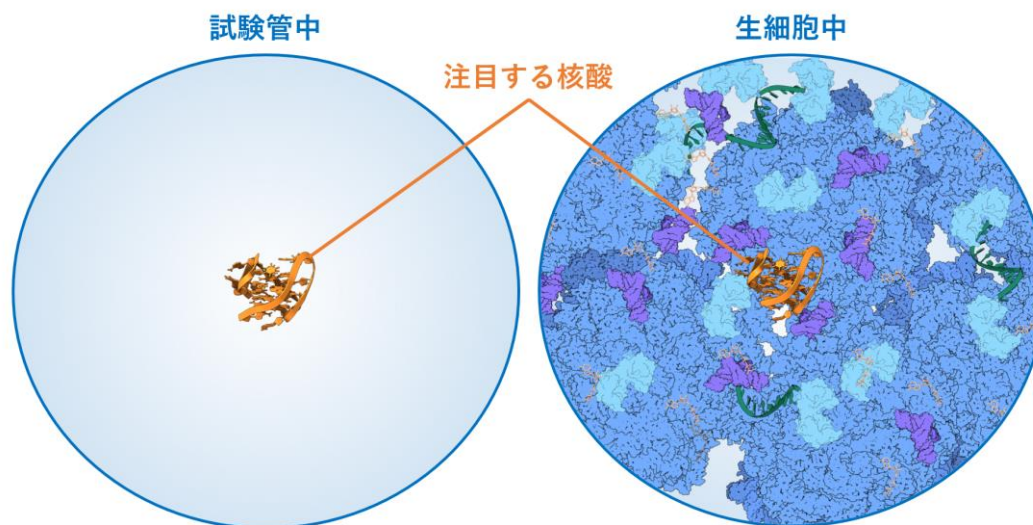


図1 試験管中(左)に比べて、生細胞中(右)は、タンパク質分子や核酸分子等で混み合っています。このため、注目する生体分子(タンパク質分子や核酸分子)の挙動(構造、ダイナミクス、相互作用)は、両条件下では異なることが予想されます。

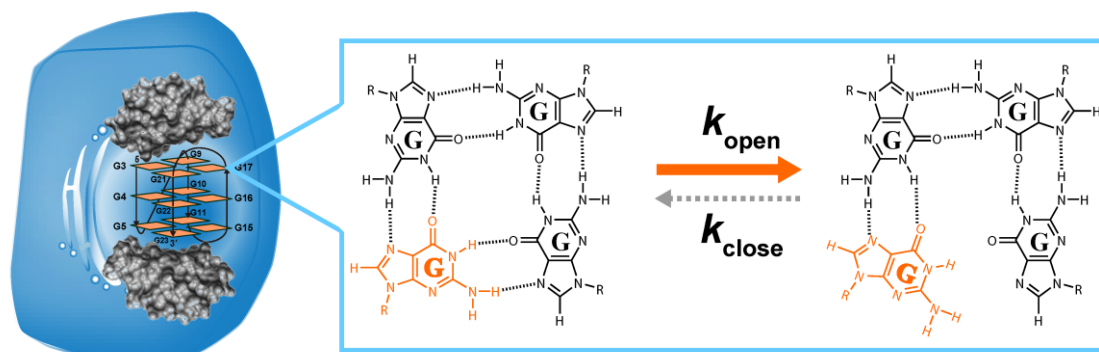


図2 4重鎖核酸構造(左)における G:C 塩基対が閉じた状態(中)と開いた状態(右)。グアニン塩基(G)のイミノプロトン(NH)は、G:C 塩基対が開いて露出した時のみ、溶媒の水のプロトンと化学交換します。この化学交換をインセル NMR 法を用いて解析した結果、生細胞中では試験管中に比べて、塩基対が開く頻度(k_{open})が高いことが分かりました。生細胞中におけるタンパク質(左図の灰色の分子)との非特異的な相互作用がこの原因であることも分かりました。