

HELICAL STRUCTURES OF HETEROCHIRAL ADENYLYL-(3'-5')-ADENOSINES AND THEIR ABILITY TO FORM TRIPLE HELIX WITH POLY(U)

Hidehito Urata*, Makiko Go, Norihiko Ohmoto and Masao Akagi*

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

Email: urata@gly.oups.ac.jp, akagi@gly.oups.ac.jp

(Received 22 August 2002 Accepted 30 August 2002)

Abstract

We synthesized four optical isomers [D-(ApA), ADpAL, ALpAD, L-(ApA)] of adenylyl-(3'-5')-adenosine (ApA) and investigated the chemical and helical structures of the dimers by means of enzymatic digestion, circular dichroism (CD) and UV melting experiments. The results of enzymatic digestion experiments with nuclease P1, snake venom phosphodiesterase (SVPD) and RNase T₂ confirmed the chemical structures of the dimers. It is known that D-(ApA) and L-(ApA) form right- and left-handed helical structures, respectively [P. O. P. Ts'o et al. *Biochemistry*, **9**, 3499-3514 (1970)]. The CD spectra of the heterochiral dimers suggested that ALpAD has a right-handed helical sense whereas ADpAL has a left-handed helical sense. This result was also confirmed by UV melting experiments of the triple helices formed by the dimers with D-poly(U), which showed that the thermal stability of D-(ApA)•2poly(U) and ALpAD•2poly(U) is much higher than that of L-(ApA)•2poly(U) and ADpAL•2poly(U). Thus, the propensity of ALpAD to form the right-handed helical structure is similar to that of D-(ApA), whereas L-(ApA) and ADpAL have the similar propensity of resisting the formation of the right-handed helical structure. These results indicate that the chirality of the 3'-end residue is the primary factor for determining the helical sense of ApA. On the basis of the above results, the chemical evolution of RNA and the origin of the homochirality of RNA were discussed.

(Keyword)

homochirality of RNA, adenylyl-(3'→5')-adenosine (ApA), structure of heterochiral RNA, chemical evolution of RNA, RNA world

ヘテロキラル ADENYLYL-(3'-5')-ADENOSINE のらせん構造 および POLY(U)との三重鎖形成能

浦田秀仁*, 郷真貴子, 応本憲彦, 赤木昌夫*

大阪薬科大学 機能分子創製化学研究室
〒569-1094 大阪府高槻市奈佐原 4-20-1

要旨

リボ核酸 (RNA) のホモキラリティーの確立という問題に対するモデルを構築する一環として, adenylyl-(3'-5')-adenosine (ApA) の 4 種の光学異性体 [D-(ApA), AdpAL, ALpAD, L-(ApA)] を合成し, これまで明らかにされていないヘテロキラルな ApA の構造を解析する目的で以下の検討を行った. 幾つかの核酸分解酵素による分解反応で, D-(ApA) は完全に分解されるが, L-(ApA) は分解反応を受けなかった. 一方, ヘテロキラルなダイマーの酵素分解反応は L 型アデノシンの位置および酵素の種類に依存した. 円二色性 (CD) スペクトルから D-(ApA) と ALpAD は右巻きらせんを, L-(ApA) と AdpAL は左巻きらせんを形成することが明らかになり, これらの poly(U) との三重鎖形成能はダイマー単独でのらせんの巻き方に強く依存しており, 左巻きらせんを形成する L-(ApA) と AdpAL は poly(U) との三重鎖の熱安定性は大きく低下した. 以上の結果から, ApA の 3'-末端側残基のキラリティーが ApA のらせんの巻き方や poly(U) との三重鎖形成能を強く支配していることが明らかになった. 今回得られた知見を基に, RNA の化学進化とホモキラリティーの起源について考察した.

1. 緒言

RNA が生命の前駆物質であったとする RNA ワールド仮説 [1] は, RNA に触媒能が見出されて以来主流となってきたが, この RNA ワールド仮説にも幾つかの問題がある. その第 1 点は, 触媒活性を持つような比較的長鎖の RNA がどのようにして生成したかという問題であり, 第 2 点は RNA のホモキラリティーがどのようにして達成されたかという問題である. 糖やアミノ酸は不斉炭素を有し, D,L 2 種の光学異性体が存在可能で, 原始地球上で酵素のようなキラル触媒なしに生成したであろう生体分子は, D 型と L 型の 1:1 の混合物であるラセミ体であったと考えられる. RNA は D-リボースを構成糖とした D-ヌクレオチドが重合したポリマーで, DNA と同様 D-ホモキラリティーを有している. この D-ホモキラリティーは核酸の高次構造形成や機能発現に不可欠なものと考えられており, ホモキラリティーの確立なしに現在の生命システムの出現はあり得なかったと考えられている. つまり, 以上の 2 つの問題点をまとめると, ラセミ体ヌクレオチドからどのようにして D-ホモキラルな RNA が生成したかということになる.

Joyce らは RNA を鋳型に用いたラセミ体モノヌクレオチドの非酵素的重合反応を検討し [2], 同様に D 型モノヌクレオチドを重合させた場合と比べ, その重合効率が極端に低下することを報告しており, 彼らは RNA 以外の鋳型を用いてたとしてもこの問題を解決する手段は見いだせそうにないと言及している [3]. 著者らは, この「エナンチオ交叉阻害」の問題は RNA の化学進化を考える上で最も大きな問題の 1 つであり, また RNA のホモキラリティーの確立という問題とも関連している可能性もあると考え, ラセミ体モノヌクレオチドの非酵素的重合反応に着目した. Ferris らは D-モノヌクレオチドの重合反応の触媒として粘土鉱物で

あるモンモリロナイトが有効であることを報告しており [4], このモンモリロナイトを用いてラセミ体モノヌクレオチドの重合反応を行ったところ, 顕著な重合効率の低下を引き起こすことなく RNA オリゴマーが生成することを, 著者らおよび Ferris らのグループがそれぞれ独立に見出した [5]. この反応では様々な結合異性体とともにホモキラルなオリゴマーと, D-ヌクレオチドと L-ヌクレオチドが混在するヘテロキラルなオリゴマーが生成することが判明し, またホモキラルなオリゴマーが幾分優先的に生成してくることもわかった. このように RNA の化学進化の過程で存在したであろうヘテロキラルな RNA オリゴマーとホモキラルな RNA オリゴマーの構造化学的性質の相違が, ラセミ体モノヌクレオチドから D-ホモキラルな RNA への化学進化を実現した可能性が考えられる. しかし, ヘテロキラルな RNA の構造や物性に関する報告は著者らが知る限り皆無で, RNA がホモキラリティーを獲得した過程を考察するためにはヘテロキラルな RNA の構造や物性に関する情報が必要である.

過去に, 最も単純な RNA である ApA の両光学異性体 [D-(ApA), L-(ApA)] を合成し, 天然型である D-(ApA) は右巻きの, 非天然型である L-(ApA) は左巻きのらせん構造を形成することが Tazawa らにより報告されているが [6], ヘテロキラルな ApA に関する報告はなされていない. そこで本論文では, ホモキラルな RNA とヘテロキラルな RNA の構造化学的性質の差異を調べる一環として, 最も単純な RNA であるダイマー ApA の 4 種の光学異性体 [D-(ApA), AdpAL, ALpAD, L-(ApA)] を合成し, それらの構造化学的性質について以下の検討を行った.

2. 実験

2-1 試薬

Nuclease P1, RNase T₂ および snake venom phosphodiesterase (SVPD) はそれぞれヤマサ醤油, シグマ, ベーリンガー社製を用いた. Poly(U)はアマシャムファルマシア社製を用いた. L-リボースは我々が開発した方法により合成し [7], D-リボースを出発原料とする天然型アデノシンの合成法 [8] を L-リボースに適用して L-アデノシンを合成した. また, 各 ApA 光学異性体 [D-(ApA), AdpAL, ALpAD, L-(ApA)] はアデノシン, L-アデノシンを出発原料としてリン酸トリエステル法 [9] により合成した.

2-2 核酸分解酵素による分解反応

(a) Nuclease P1による分解

凍結乾燥した各 ApA 異性体 (1 OD unit) に MilliQ 水 10 μ l, 0.2 M 酢酸アンモニウム (pH 5.0) 4 μ l を加え, nuclease P1 (1mg/ml) 2 μ l を加え, 37°C で 3 h 反応させた後, 30 mM EDTA 4 μ l を加えた.

(b) Snake venom phosphodiesterase (SVPD) による分解

凍結乾燥した各 ApA 異性体 (1 OD unit) に 10 mM MgCl₂, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) 14 μ l を加え, SVPD (0.5mg/ml) 1 μ l を加え, 37°C で 3 h 反応させた後, 30 mM EDTA 4 μ l を加えた.

(c) RNase T₂による分解

凍結乾燥した各 ApA 異性体 (1 OD unit) に MilliQ 水 8 μ l, 0.2 M 酢酸アンモニウム (pH 5.0) 4 μ l を加え, RNase T₂ (0.05 U/ μ l) 4 μ l を加え, 37°C で 3 h 反応させた後, 10 mM CuSO₄ 2 μ l を加えた.

以上の酵素分解物を Millipore 社製 Ultrafree-MC (10,000 NMWL) を用いて限外ろ過後, 島津製作所製 LC-10A システムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析した. カラムは Waters 製 μ Bondasphere 5C18 100Å (ϕ 3.9 x 150 mm)を用い, 溶出は 50 mM KH₂PO₄ (pH 4.0) を含むアセトニトリルの直線濃度勾配 (0-10%/20min) で行った.

2-3 ApA 異性体のモル吸光係数の測定

L-(ApA)以外の各 ApA 異性体について, 6本のポリプロピレン製試験管に正確に 2.5 OD units ずつ凍結乾燥し, そのうち3本は上記と同様に nuclease P1 あるいは SVPD による酵素反応に付し, アデノシンと 5'-AMP に完全分解した. 残りの3本は酵素を加えないこと以外はまったく同様に操作し, 反応後 0.1 M NaCl, 10 mM NaH₂PO₄ (pH 7.0) 3 ml に溶解し, 260 nm における 25°C での吸光度を測定した. アデノシンと 5'-AMP のモル吸光係数に, 分解によって生じる hyperchromicity を考慮して各ダイマーのモル吸光係数を求めた. D-(ApA)および ALpAD は nuclease P1, AdpAL は SVPD により分解反応を行ったが, いずれの酵素にも完全分解されない L-(ApA)のモル吸光係数は D-

(ApA)と同一と仮定した. 各 ApA 異性体のモル吸光係数は D-(ApA); 25,500, AdpAL; 26,400, ALpAD; 26,200, L-(ApA); 25,500 [l/mmol \cdot cm] であった.

2-4 CD スペクトルの測定

(a) ApA 単独での CD スペクトル

凍結乾燥した各 ApA 異性体に 0.1 M NaCl, 10 mM NaH₂PO₄ (pH 7.0) を加え, ダイマー濃度 40 μ M としたサンプル溶液を光路長 1 cm のセルで測定した. 測定は日本分光社製 J-820 円二色性分散計により行った.

(b) Poly(U)との三重鎖の CD スペクトル

ApA および poly(U)を凍結乾燥し, ヌクレオチド残基濃度が ApA 40 μ M, poly(U) 80 μ M となるよう 10 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) を加え測定サンプルとした.

2-5 UV 混合曲線

総ヌクレオチド残基濃度が 120 μ M となるように各 ApA 異性体と poly(U)を混合比 0%から 100%の範囲で適宜混合したサンプルを 10 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5)に溶解し, 光路長 1 cm のセルを用いて-5°C で 260 nm における吸光度を測定した. 測定は日本分光社製 Ubest-55 分光光度計により行った.

2-6 融解曲線の測定

ヌクレオチド残基濃度が ApA 40 μ M, poly(U) 80 μ M となるよう 10 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) に溶解したサンプルを光路長 1 cm のセルに加え, 温度コントロールユニットを装着した日本分光社製 Ubest-55 分光光度計により行った. 温度は 0°C から 30°C まで 0.5°C/min の速度で昇温し, 0.2°C 毎に 260 nm における吸光度を測定した. 融解温度 (T_m 値) は得られた融解曲線を 1 次微分して求めた.

3. 結果および考察

3-1 各 ApA 異性体に対する核酸分解酵素の反応性

合成した各 ApA 異性体の構造確認と, 核酸分解酵素の L 型核酸に対する基質認識特性を調べる目的で nuclease P1, SVPD および RNase T₂ による分解反応を行った. その結果を Fig. 1 に示した. 天然型の D-(ApA)はいずれの酵素によっても完全に分解され, 対応するアデノシンおよび 5'-ないし 3'-AMP を与えたが (Fig. 1A), その鏡像体である L-(ApA)はいずれの酵素に対してもほぼ完全な抵抗性を示した (Fig. 1B). 一方, ヘテロキラルなダイマーのうち AdpAL は nuclease P1, RNase T₂ により完全に分解されたが, SVPD には抵抗し (Fig. 1C), その鏡像体である ALpAD は逆に SVPD にのみ分解された (Fig. 1D). この結果を Fig. 2 にまとめたが, 3'-exonuclease である SVPD が ALpAD を分解し, AdpAL を分解できなかったことは SVPD が加水分解するリン酸ジエステル結合の

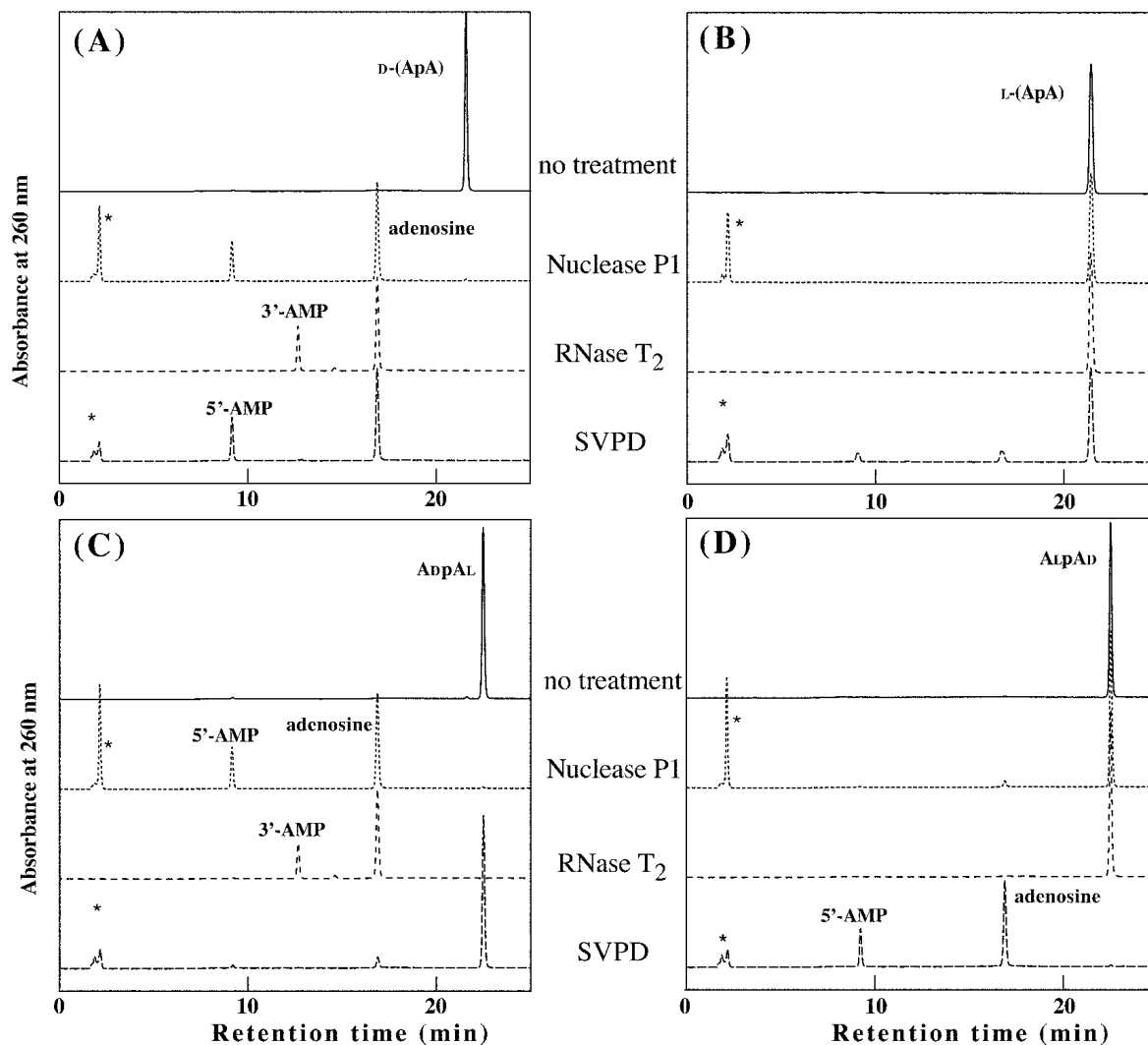


Figure 1. Reversed-phase HPLC profiles of D-(ApA) (A), L-(ApA) (B), ALpAD (C) and ADpAL (D) and their reactions with nuclease P1, RNase T₂ and snake venom phosphodiesterase (SVPD). Asterisks represent a peak derived from EDTA. Elution was carried out on a column of μ Bondasphere C18-100Å (Waters) with a linear gradient of CH₃CN (0-10%) for 20 min in 50 mM KH₂PO₄, pH 4.0.

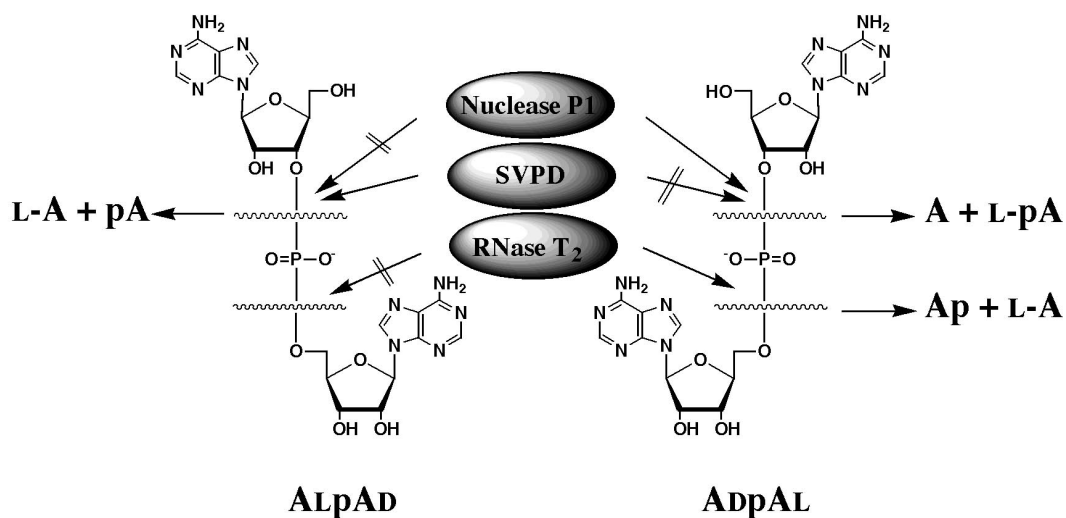


Figure 2. Schematic presentation of the results for enzymatic digestion of heterochiral ApAs.

3'-末端側のヌクレオチド残基を認識していることを意味している。また, nuclease P1 と RNase T₂ がともに ADpAL を分解したことは, これらが加水分解するリン酸ジエステル結合上の作用点が異なっているにもかかわらず, ともに加水分解するリン酸ジエステル結合の 5'-末端側のヌクレオチド残基を認識していることを示している。以上の結果は各核酸分解酵素の基質認識特性を良く反映したもので [10], 合成した各 ApA 異性体の化学構造の妥当性を支持している。

3-2 各 ApA 異性体のらせん構造

上述のように ApA は単独でらせん様構造を形成し, D-(ApA) は右巻きの, L-(ApA) は左巻きのらせん構造をそれぞれ形成することが Tazawa らにより報告されており [6], ホモキラルな ApA のらせん構造がヘテロキラル化することによってどのように変化するかを調べる目的で CD スペクトルの測定を行った。その結果を Fig. 3 に示した。D-(ApA) は 270 nm と 252 nm にそれぞれ正と負に分裂したほぼ同強度の Cotton band を有し, 典型的な保存的 (conservative) な CD スペクトルを示した。これはアデニン環がらせん軸に対しほぼ垂直であるなら, アデニンの遷移モーメントが右巻きの helical twist を形成している, つまり2つのアデニン環が右巻きのスタッキング相互作用をしていることを意味する [11]。また, L-(ApA) は D-(ApA) と全く対称的なスペクトルを示しており, D-(ApA) の鏡像となるらせん構造を形成していることから, Tazawa らの報告通り D-(ApA) は右巻き, L-(ApA) は左巻きのらせん構造を形成していることがわかる。一方, ヘテロキラルな ApA では, ALpAD は CD 強度はやや弱くなっているものの D-(ApA) と類似のスペクトルを示し, ADpAL は ALpAD とは対称的で L-

(ApA) と類似のスペクトルを示した。このことは, ヘテロキラルな ApA はホモキラルな ApA とはやや異なるスタッキング様式をとるものの, ALpAD および ADpAL はそれぞれ右巻きおよび左巻きのらせん構造を形成していることを示唆している。また, 以上の結果から ApA のらせんの巻き方は 3'-末端側残基のキラリティーに大きく依存していることが明らかになった [12]。

3-3 各 ApA 異性体の poly(U) との三重鎖形成能

D-(ApA) と L-(ApA) は poly(U) と三重らせん構造を形成することが知られているが [6], ヘテロキラルな ApA がどういった挙動を示すか検討を行った。Fig. 4 に各 ApA 異性体と poly(U) との UV 混合曲線を示している。核酸は二重鎖や三重鎖などの二次構造を形成すると UV 吸収強度が低下する淡色化が認められる。D-(ApA) や L-(ApA) を様々な割合で poly(U) と混合すると, A と U の残基モル比が約 1 : 2 のところで吸光度の極小値 (淡色率の極大値) が認められ (Fig. 4A, B), Tazawa らが報告しているとおりに三重鎖を形成していることがわかる。一方, 2種のヘテロキラルなダイマーの場合 (Fig. 4C, D) にも同様に A : U = 1 : 2 の混合比で極小値が認められ, これらもやはり三重鎖を形成していることが明らかになった。

次に, これらの三重鎖の熱安定性を評価したのが Fig. 5 で, 各三重鎖の熱による融解に伴う吸光度変化を示している。また, この融解曲線から求めた融解温度 (T_m 値) を Fig. 6 に示している。ALpAD · 2poly(U) は D-(ApA) · 2poly(U) と類似の T_m 値 (13.7°C, 14.7°C) を示し, ほぼ同等の安定性を有していることがわかる。しかし, ADpAL · 2poly(U) と L-(ApA) · 2poly(U) は大きく安定性が低下し, かつ両者は

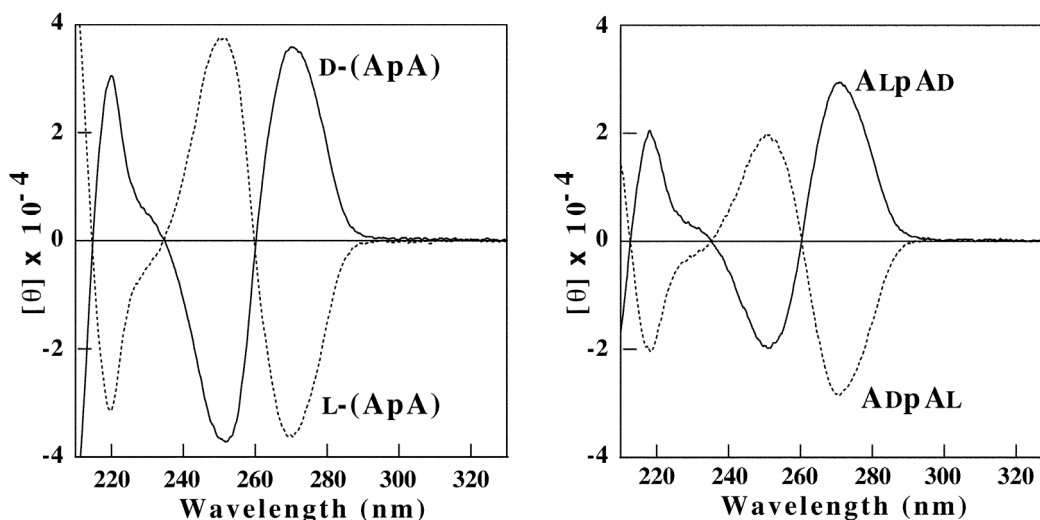


Figure 3. CD spectra of homochiral ApAs (left) and heterochiral ApAs (right). Concentration of ApAs is 40 μ M in 0.1 M NaCl, 10 mM sodium phosphate, pH 7.0. Measurements were carried out at 0°C.

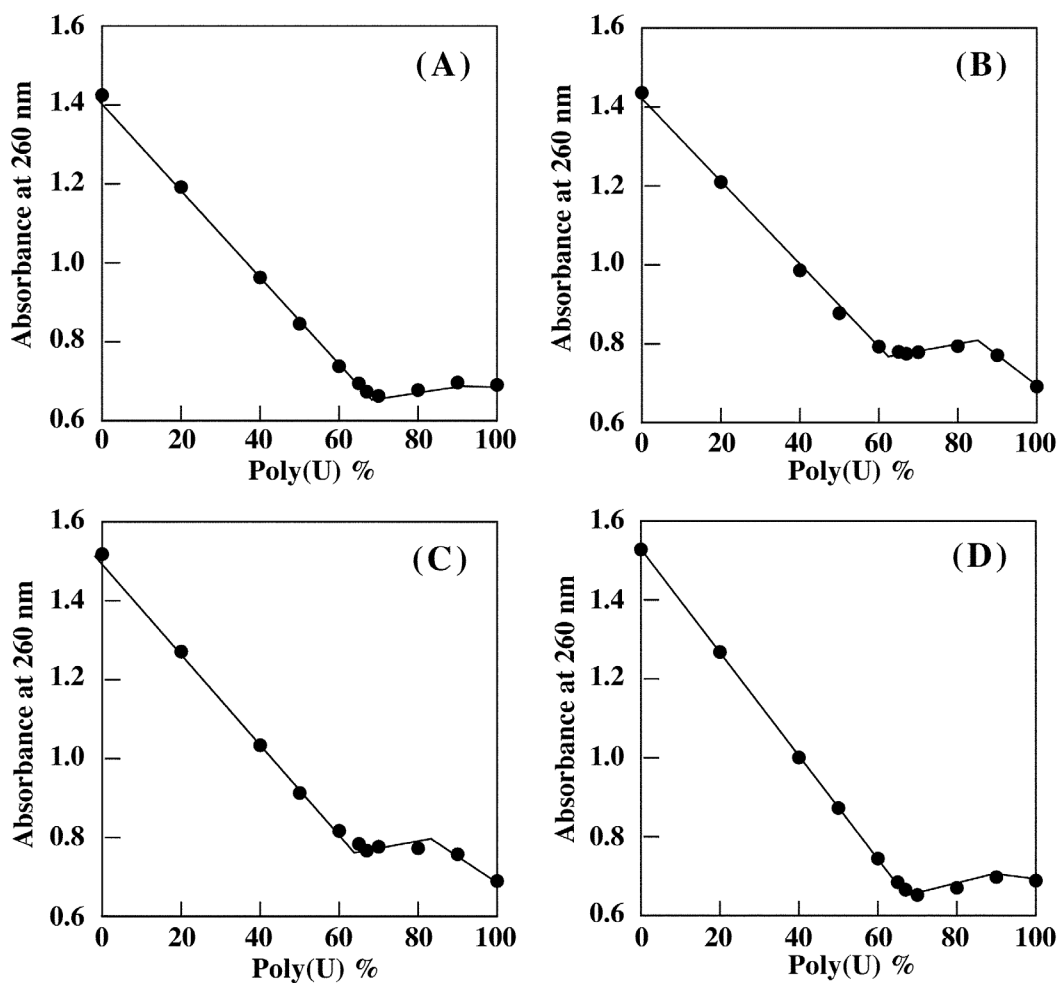


Figure 4. UV mixing curves of D-(ApA) (A), L-(ApA) (B), ADpAL (C) and ALpAD (D) with poly(U) in 10 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5 at -5°C. Total nucleotide concentration is 120 μM.

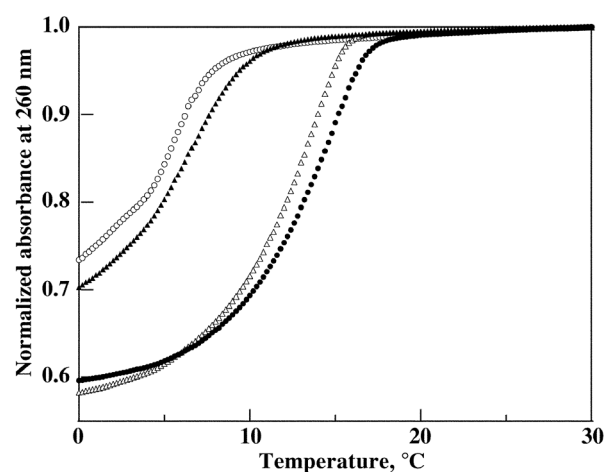


Figure 5. UV melting profiles of the triplexes of D-(ApA) (closed circles), L-(ApA) (open circles), ADpAL (closed triangles) and ALpAD (open triangles) with poly(U). Nucleotide concentration is 40 μM for ApAs and 80 μM for poly(U) in 10 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5. The T_m values in the text and Figure 6 were determined from the first-derivative plots of the profiles.

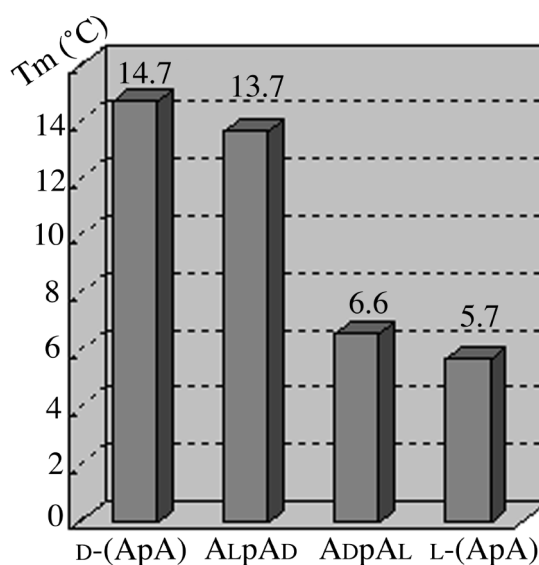


Figure 6. Histogram of the melting temperatures of the triplexes formed by each ApA isomer with poly(U).

ほぼ同等の T_m 値 (6.6°C, 5.7°C) を有している。つまり、4種の ApA 異性体が、poly(U)との三重鎖の安定性において2つのグループに類別されたことになる。Fig. 7 はこれら三重鎖の CD スペクトルであるが、D-(ApA)・2poly(U)は右巻きの三重鎖を形成することが知られている poly(A)・2poly(U)と非常に良く似たスペクトルを示し [13]、右巻きの三重鎖を形成していることがわかるが、他の3種の三重鎖も低温では本質的に同様の CD スペクトルを示したことから、これらはすべて右巻きの三重鎖を形成していることがわかる。

以上の結果から各 ApA 異性体の構造について考察すると、D-(ApA)・2poly(U)と ALpAD・2poly(U)が同等の安定性を示したことから D-(ApA)と ALpAD は同程度の右巻きらせん形成能

を有していることがわかる。これに対して三重鎖の安定性が大きく低下した L-(ApA)と ADpAL は、D-(ApA)と ALpAD と比べ右巻きらせん形成能が著しく低下している。これはダイマー単独での CD スペクトルの結果を考慮すると、L-(ApA)と ADpAL は左巻きらせん構造を形成し、右巻きらせん構造をとりにくい性質を反映していると考えられる。また以上のことより、ヘテロキラルな ApA では L-アデノシン残基の導入位置の違いで右巻きらせん形成能が大きく異なる、つまり ALpAD は D-(ApA)と同程度の右巻きらせん形成能を有し、一方 ADpAL は L-(ApA)と同程度の左巻きらせん形成能を有することから、3'-末端側残基のキラリティーが ApA のらせん構造や(ApA)・2poly(U)の安定性を支配する主要因であることが強く示唆された [12]。

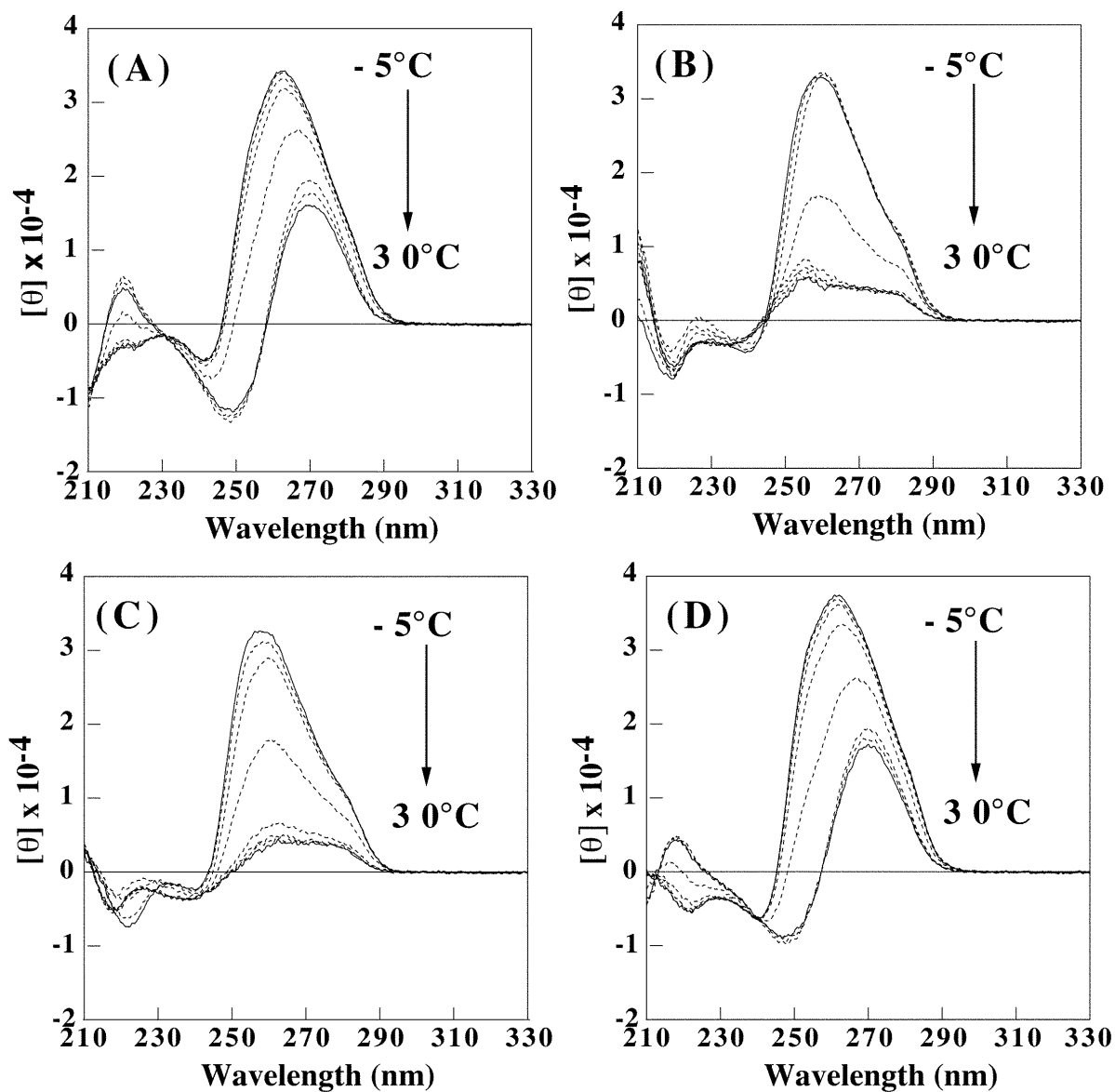


Figure 7. Temperature dependence of CD spectra of the triplexes of D-(ApA) (A), L-(ApA) (B), ADpAL (C) and ALpAD (D) with poly(U). Nucleotide concentration is 40 μ M for ApAs and 80 μ M for poly(U) in 10 mM $MgCl_2$, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5. Solid lines represent spectra at -5° and 30° C.

3-4 各 ApA 異性体のらせん構造と RNA の化学進化に関する考察

4 種の ApA 異性体はそれ自身のらせんの巻き方によって右巻きの D-(ApA)と ALpAD, および左巻きの L-(ApA)と ADpAL に類別できた。モノヌクレオチドの鋳型指示重合反応では鎖の伸長は 5'→3' 方向に進むと報告されているが [14], Joyce らは, モノヌクレオチドの鋳型指示重合反応の L 型ヌクレオチドによる阻害は, 伸長鎖の 3'-末端への L 型モノヌクレオチドの取り込みによるもので, 伸長鎖の 3'-末端に取り込まれた L 型ヌクレオチドはさらなる重合反応に立体的に不利となり, チェーンターミネーターとして働くためであると結論している [2]. Joyce らが行った poly(C) を鋳型にしたラセミ体グアニンモノヌクレオチドの重合反応の系で生成するダイマーは pGpG であり, 本研究での poly(U) と ApA の系とでは, ダイマーの 5'-リン酸の有無および塩基の種類に違いがあるためヘテロキラルな pGpG の構造化学的挙動がヘテロキラルな ApA のそれとは異なる可能性がある。また, G-C ペアでは二重鎖が, A-U ペアでは三重鎖が最安定な二次構造として形成される点で重合反応の性質にも相違がある可能性もある [15]. 従って, 本研究結果を用いて Joyce らの報告に対して直接的に言及することはできないが, ApA の系と pGpG の系の構造化学的特性が同様であるという仮定の基では, 本研究結果から「エナンチオ交叉阻害」に関して次のような考察が可能である。

本研究で左巻きに類別された L-(ApA) および ADpAL の 3'-末端は L 型のアデノシンで, これらは相補鎖 RNA との三重鎖が非常に不安定になる。従って, 鋳型指示重合反応で生成する 3'-末端に L 型ヌクレオチドを持つダイマーは鋳型との多重鎖形成にも大きく不利に働き, 重合反応に適した反応場を形成できなくなることを示唆している。つまり, ラセミ体モノマーを用いた鋳型指示重合反応は, 3'-末端に取り込まれた L 型ヌクレオチドの立体的要因による重合活性の低下と, 反応初期に生成するダイマーのプライマーとしての活性低下という 2 つの要因で相乗的に阻害されているものと考えられる。

また, ヘテロキラルなオリゴマーでも, そのすべてが鋳型鎖との多重鎖形成能が極端に低下するわけではなく, 少なくともダイマーレベルでは 3'-末端が D 型であれば D-ホモキラルなダイマーとはほぼ同等の多重鎖形成能を有することから, 3'-末端に D 型ヌクレオチドを持つホモキラルおよびヘテロキラルなダイマーはより長鎖のオリゴマーへと伸長していく能力を有しているかもしれない。しかし, このようなダイマーも 3'-末端に L 型のモノマーが付加しトリマーになると, 立体的要因およびプライマー活性の低下でさらなる伸長反応が阻害される可能性が考えられる。以上のことから, 鋳型指示重合反応における「エナンチオ交叉阻害」の本質的な

要因は, 反応初期に D, L 双方のモノマーが水素結合を介して鋳型上にランダムに整列し L 型モノマーを排除できないことにありと想像できる。従って, 鋳型上への整列時に L 型モノマーを排除する機構を見い出すことができれば「エナンチオ交叉阻害」の問題を解決できる可能性があると考えられる。

4 結論

ApA の 4 種の光学異性体を合成し, その構造を核酸分解酵素による分解反応および CD スペクトルによる解析, さらに poly(U) との三重鎖形成能の比較により, ApA のらせんの巻き方は 3'-末端側残基のキラリティーによりほぼ一義的に決定されていることが強く示唆された。また, このらせんの巻き方が相補的な RNA である poly(U) との三重鎖の安定性に大きく影響していることから, モノヌクレオチドの鋳型指示重合反応における「エナンチオ交叉阻害」の問題について議論した。さらに詳細に「エナンチオ交叉阻害」の問題に言及するには, トリマー, テトラマーなどのより長鎖のヘテロキラルなオリゴマーの鋳型 RNA との多重鎖の安定性やモノマーとの反応性を評価していく必要がある。

参考文献

1. Gilbert, W., *The RNA World*, *Nature*, **319**, 618 (1986); Gesteland, R. F. and Atkins J. F. Ed., *The RNA World*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1993.
2. Joyce, G. F., Visser, G. M., van Boeckel, C. A. A., van Boom, J. H., Orgel, L. E., van Westrenen J., Chiral selection in poly(C)-directed synthesis of oligo(G), *Nature*, **310**, 602-604 (1984).
3. Schmidt, J. G., Nielsen, P. E., Orgel, L. E., Enantiomeric cross-inhibition in the synthesis of oligonucleotides on a nonchiral template, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 1494-1495 (1997).
4. Ferris, J. P., Ertem, G., Oligomerization of ribonucleotides on Montmorillonite: Reaction of the 5'-phosphorimidazolide of adenosine, *Science*, **257**, 1387-1389 (1992).
5. Urata, H., Aono, C., Ohmoto, N., Shimamoto, Y., Kobayashi, Y., Akagi, M., Efficient and Homochiral Selective Oligomerization of Racemic Ribonucleotides on Mineral Surface, *Chem. Lett.*, 324-325 (2001); Joshi, P. C., Pitsch, S., Ferris, J. P., Homochiral selection in the montmorillonite-catalyzed and uncatalyzed prebiotic synthesis of RNA, *Chem. Commun.*, 2497-2498 (2000).

6. Tazawa, I., Tazawa, S., Stempel, L. M., Ts'o, P. O. P., L-Adenylyl-(3'-5')-L-adenosine and L-adenylyl-(2'-5')-L-adenosine, *Biochemistry*, **9**, 3499-3514 (1970).
7. Akagi, M., Omae, D., Tamura, Y., Ueda, T., Kumashiro, T., Urata, H., A practical synthesis of L-Ribose, *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 866-868 (2002).
8. Cimpoia, A. R., Hunter, P. J., Evans, C. A., On the conversion of arabino- and ribofuranosyl methyl glycosides to their 1-O-acetyl derivatives, *J. Carbohydr. Chem.*, **13**, 1115-1119 (1994).; Vorbrüggen, H., Krolikiewicz, K., New catalysts for the synthesis of nucleosides, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **14**, 421-422 (1975).
9. Ohtsuka, E., Ohkubo, M., Yamane, A., Ikehara, M., Studies on transfer ribonucleic acids and related compounds. XLIV. A large-scale synthesis of the anticodon heptanucleotide of formyl-methionine transfer ribonucleic acid by using 2'-O-tetrahydrofuranynucleosides, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1910-1916 (1983).
10. 池原森男, 核酸, 朝倉書店, pp179-191, 東京, 1979.
11. Bush, C. A., Brahms, J., Conformation of nucleic acids, oligo- and polynucleotides by circular dichroism investigations, in *Physicochemical Properties of Nucleic Acids*, Vol. 2, Duchesne, J. ed., chap. 12, Academic Press, New York, 1973.
12. Urata, H., Go, M., Ohmoto, N., Minoura, K., Akagi, M., Helical structure of heterochiral RNA dimers: helical sense of ApA is determined by chirality of 3'-end residue, *Chem. Commun.*, 544-545 (2002).
13. Johnson, K. H., Gray, D. M., Sutherland, J. C., Vacuum UV CD spectra of homopolymer duplexes and triplexes containing A·T or A·U base pairs, *Nucleic Acids Res.*, **19**, 2275-2280 (1991); Saenger, W., *The Principles of Nucleic Acid Structure*, Chapter 10, Springer-Verlag, New York, 1984.
14. Inoue, T., Orgel, L. E., Oligomerization of (guanosine 5'-phosphor)-2-methylimidazolide on poly(C), *J. Mol. Biol.*, **162**, 201-217 (1982).
15. Orgel, L. E., Lohrmann, R., Prebiotic Chemistry and Nucleic Acid Replication, *Acc. Chem. Res.*, **7**, 368-377 (1974).