#### HELICAL STRUCTURES OF HETEROCHIRAL DNA DIMERS AND COMPARISON WITH RNA DIMERS

Hidehito Urata\*, Yoshihiro Hirata, Takako Toji, Ikumi Ochiai and Masao Akagi

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan Email: urata@gly.oups.ac.jp

(Received October 8, 2011; Accepted November 30, 2011)

We synthesized four diastereomeric isomers [D-d(ApA), d(ADpAL), d(ALpAD), L-d(ApA)] of 2'-deoxyadenylyl-(3'-5')-2'-deoxyadenosine and investigated the chemical and helical structures of the dimers by means of enzymatic digestion, circular dichroism (CD) and UV melting experiments of their complexes with poly(U). The results of enzymatic digestion experiments with nuclease P1 and snake venom phosphodiesterase (SVPD) confirmed the chemical structures of the dimers. The CD spectra of the dimers suggested that heterochiral d(ALpAD) has a right-handed helical sense as well as natural D-d(ApA), whereas d(ADpAL) has a left-handed helical sense as well as L-d(ApA), an unnatural enantiomer of D-d(ApA). The right-handed helix-forming ability of the dimers in the presence of the complementary strand was also investigated by UV melting experiments of the triple helices formed by the dimers with D-poly(U). The results showed that D-(ApA), d(ALpAD) and d(ADpAL) form relatively stable triple helices with poly(U), whereas L-d(ApA) is unable to hybridize with poly(U). Thus, the propensities of D-(ApA), d(ALpAD) and d(ADpAL) to form the right-handed helical structure with complementary strands are not much different from each other, in contrast, that of L-d(ApA) is quite low. On the basis of these results, the chemical evolution of RNA and the origin of the homochirality of RNA were discussed.

## (Keyword)

homochirality of nucleic acid, 2'-deoxyadenylyl-(3'  $\rightarrow$  5')-2'-deoxyadenosine [d(ApA)], structure of heterochiral DNA, chemical evolution of RNA, RNA world

 ヘテロキラル DNA ダイマーの右巻きらせん 形成能および RNA ダイマーとの比較
浦田秀仁\*,平田好宏,田路貴子,落合郁美, 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

自己複製分子のホモキラリティーの確立と RNA ワールド仮説との関連を考察する一環とし て, 2'-deoxyadenylyl-(3'-5')-2'-deoxyadenosine [d(ApA)] の4種の光学異性体 [D-d(ApA), d(ADpAL), d(ALpAD), L-d(ApA)]を合成し,それら の右巻きらせん形成能について検討を行った.円 二色性 (CD) スペクトルから D-d(ApA)と d(ALpAD)は右巻きらせんを形成することが明ら かになったが,これらの poly(U)との三重鎖形成 能を指標とした右巻きらせん形成能を評価した ところ、ヘテロキラルな d(ALpAD)および d(ADpAL)の右巻きらせん性に大きな差違はなく、 また、D-d(ApA)のそれとも顕著な差がないことが 明らかになった.以上の結果から、DNA ダイマー の3'-末端側残基のキラリティーがpoly(U)との三 重鎖形成能に及ぼす効果は RNA ダイマーの場合 ほど強くない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 に触媒作用が見出されて以来、RNA が生 命の前駆物質であったとする RNA ワールド仮説 が支持されてきた [1]. しかし, この RNA ワ-ルド仮説にも、(1) 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, (2) RNA の高次構造形成や触媒活性の獲得に不可欠 とされているホモキラリティーがどうのように して達成されたかといった問題が残されている. 糖やアミノ酸は不斉炭素原子を有し, D型とL型 の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 ラセミ体として生成したと考えられる. 核酸は D-(デオキシ)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 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 たと考えられる. つまり, RNA ワールド仮説を 検証していく上で, ラセミ体ヌクレオチドからど のようにして D-ホモキラルな核酸が生成したか という homochiral selection の問題は避けて通れな 12.

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 告している [3]. この「エナンチオ交叉阻害」の 問題は核酸の化学進化を考える上で,また核酸の ホモキラリティーの成立を考える上でも最も大 きな問題の1つである. 著者らはラセミ体モノヌ クレオチドの非酵素的重合反応に着目し,粘土鉱 物を触媒に用いてラセミ体モノマーの重合反応 を行ったところ、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を明らかにした [4,5]. 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 への化学進化に寄与した可能性を検証する 目的で、ホモキラルおよびヘテロキラルな RNA ダイマーのらせん形成能を比較検討し報告して きた [6,7]. 天然型アデニル酸の二量体である adenylyl(3'-5')adenosine [以下 D-(ApA)] は右巻き らせんを形成し, そのエナンチオマーである L-(ApA) は左巻 きらせんを形成することは Tazawa らにより報告されているが [8], 著者ら はヘテロキラルな ALPAD, ADPAL ではその 3'末 端側残基のキラリティーがらせんの巻き方を決 定していることを明らかにし, このことが鋳型を 用いたラセミ体モノヌクレオチドの非酵素的重 合反応に及ぼす影響について考察した [7].

今回, RNA が, RNA ワールドの主役として鋳 型活性を持つ自己複製分子として,また触媒作用 を持つリボザイムとして化学進化を遂げてきた 背景に,その構造化学的性質が DNA とはどのよ うに相違しているかを調べる目的で,DNA ダイ マーである d(ApA)の4種の光学異性体 [D-d(ApA), d(ADpAL), d(ALpAD), L-d(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 および snake venom phosphodiesterase (SVPD) はそれぞれヤマサ醤油, 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. 2'-デオキシ-L-ア デノシンは著者らが開発した方法により合成し [9],また,各d(ApA)光学異性体 [D-(ApA),シ アデノシン,L-デオキシアデノシンを出発原料と してリン酸トリエステル法[10]により合成した.

# 2.2. 核酸分解酵素による分解反応

<u>(a) Nuclease P1 による分解</u>

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

(b) Snake venom phosphodiestrase (SVPD) による 分解

凍結乾燥した各 d(ApA)異性体 (1 OD unit) に 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) 14 μl を加 え, SVPD (0.5 mg/ml) 1 μl を加え, 37 °C で 3 h 反応させた後, 30 mM EDTA 4 μl 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µBondasphere 5C18 100Å (Φ3.9 x 150 mm)を用い,溶出は50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (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. d(ApA)異性体のモル吸光係数の測定

L-d(ApA)以外の各 d(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, デオキシアデノシンと 5'-dAMP 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 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (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. デオキシアデ ノシンと5'-dAMP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-d(ApA)および d(ALPAD)は nuclease P1, d(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-d(ApA)のモル吸光係数は D-d(ApA) と同一と仮定した. 各 d(ApA)異性体のモル吸光 係 数 は D-d(ApA); 25,700, d(ADPAL); 26,800, d(ALPAD); 27,200, L-d(ApA); 25,700 [L/mol·cm]で あった.

#### 2.4. CD スペクトルの測定

凍結乾燥した各 d(ApA)異性体に 0.1 M NaCl, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7.0) を加え,ダイマー濃度 40 mM としたサンプル溶液を光路長 1 cm のセル を用いて 0 ℃ 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.

#### 2.5. UV 混合曲線

総ヌクレオチド残基濃度が 120 μM となるように各 d(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 MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Tris-HCl (pH 7.5)に溶解し,光路長1 cm のセルを用いて 0 °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 μM, poly(U) 80 μM となるよう 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 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(Tm 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 d(ApA)異性体に対する核酸分解酵素の反応性

合成した各 d(ApA)異性体の構造を確認する目的 で, nuclease P1 および SVPD による分解反応を 行った (Fig. 1). 天然型の D-d(ApA)はいずれの酵 素によっても完全に分解され,対応するデオキシ アデノシンおよび 5'-dAMP 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 d(ADpAL)は nuclease P1 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 d(ALpAD) は逆に SVPD にのみ分解された (Fig. 1D). この 結果はRNA ダイマーである ApA 異性体の酵素分 解実験と同様の傾向を示しており,3'-exonuclease である SVPD は 3'-末端側のヌクレオチド残基を 認識して d(ALpAD)を分解するものの, 3'-末端側 のヌクレオチド残基が L 型である d(ADpAL)を認 識できないことを反映している. また, endonuclease である nuclease P1 が d(ADpAL)を分 解したことは、この酵素が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



Figure 1. Reversed-phase HPLC analyses of D-d(ApA) (A), L-d(ApA) (B), d(ADpAL) (C) and d(ALpAD) (D) and their reactions with nuclease P1 and snake venom phosphodiesterase (SVPD). Elution was carried out on a column of  $\phi$ vBondasphere C18-100Å (Waters) with a linear gradient of CH<sub>3</sub>CN (0-10%) for 20 min in 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4.0.

核酸分解酵素の RNA ダイマーに対する基質認識 特性と同様で [7], 合成した各 d(ApA)異性体の 化学構造を確認することができた.

3.2. 各 d(ApA)異性体のらせん構造

上述のように RNA ダイマーである ApA は単 独でらせん様構造を形成し、CD スペクトルから 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、ヘテロキラルな ApA についてはその 3'末端側残基のキラリティーが らせんの巻き方を規定しており、ALpAD は右巻 き, ADpAL は左巻きのらせん構造をそれぞれ形 成することが明らかになっている[6,7]. そこで, DNA ダイマーである d(ApA)の各異性体の CD ス ペクトルを測定したところ (Fig. 2), D-d(ApA)で は269 nm と250 nm にそれぞれ正と負に分裂した ほぼ同強度の Cotton band を示し, d(ALpAD)もや や強度は低下しているものの基本的には同様の スペクトルを示したことから,これらは右巻きの らせん構造をとっていることが示された.一方, L-d(ApA)と d(ADpAL)はそれぞれ D-d(ApA)や d(ALpAD)と対称的なスペクトルを示しており, これらば左巻きのらせんを形成していることが 確認できた. このように, DNA ダイマーである d(ApA)の各異性体のスペクトルは対応する RNA ダイマーである ApA の各異性体のそれと類似し ており, DNA の場合にも 3'末端側残基のキラリ ティーがダイマーのらせんの巻き方を規定して いることが明らかになった.

3.3. 各 d(ApA)異性体の poly(U)との三重鎖形成能 RNA ダイマーである ApA の各異性体は poly(U)と三重らせん構造を形成することを既に 報告したが [6,7], DNA ダイマーである d(ApA) の各異性体が相補鎖と複合体を形成するかをチ ミジル酸の20量体 (dT20) を用いて検討したが 複合体の形成は認められなかったため,より安定 に複合体を形成することが期待できる poly(U)を 用いて検討を行った. Fig. 3 は各 d(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)の各異性体を様々な割合で poly(U)と混合 すると、D-d(ApA), d(ADpAL)および d(ALpAD)に ついてはAとUの残基モル比が約1:2のとごろ で吸光度の極小値(淡色率の極大値)が認められ (Fig. 3A, B and C), 三重鎖を形成していること がわかる. 一方, 同じ条件で L-d(ApA)の場合に は極小値は認められず, poly(U)との間で二重鎖 や三重鎖の形成はないことがわかった (Fig. 3D).



Figure 2. CD spectra of homochiral D- (solid line) and L-d(ApA) (dotted line) (A), and heterochiral d(ALpAD) (solid line) and d(ADpAL) (dotted line) (B). Concentration of dimers is 40  $\mu$ M in 0.1 M NaCl, 10 mM sodium phosphate, pH 7.0. Measurements were carried out at 0 °C.



Figure 3. UV-mixing curves of D-d(ApA) (A), ALpAD (B), ADpAL (C) and L-(ApA) (D) with poly(U) in 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5 at 0 °C. Total nucleotide concentration is 120  $\mu$ M.

次に,これらの三重鎖の熱安定性を評価した のが Fig. 4 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(Tm 値)を Fig. 5A に示してい る. この中で D-d(ApA)・2poly(U)は有意に高い熱 安定性を示しており (Tm 値 16.2 °C), 次いで d(ALpAD)・2poly(U)と d(ADpAL)・2poly(U)が類似 の Tm 値 (13.2 °C, 11.8 °C) を示し, L-d(ApA)は



Figure 4. UV-melting profiles of the triplexes of D-d(ApA) (closed circles), ALpAD (open circles), ADpAL (closed triangles), and L-(ApA) (open triangles) with poly(U). Nucleotide concentration is 40  $\mu$ M for dimers and 80  $\mu$ M for poly(U) in 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM Tris-HCl, pH 7.5. The Tm values in the text and Figure 5 were determined from the first-derivative plots of the profiles.

poly(U)との間で高次構造は形成せず, poly(U)単 独での融解と一致する融解曲線が得られたのみ であった (Fig. 4, open triangles).

-方で,以前著者らが報告したように RNA ダ イマーでは D-(ApA)・2poly(U)と ALpAD・2poly(U) がほぼ同等の高い安定性を有し (Tm; 14.7 ℃, 13.7 °C),  $ADpAL \cdot 2poly(U) \geq L \cdot (ApA) \cdot 2poly(U) \mid t$ ともに安定性が大きく低下(Tm; 6.6 °C, 5.7 °C) していたことから (Fig. 5B) [6,7], d(ApA)各異 性体の右巻きらせん形成能について次のように 考察できる. D-d(ApA)・2poly(U)は最も高い安定 性を示したことから, D-d(ApA)は最も高い右巻き らせん形成能を有しており、次いで d(ALpAD)・ 2poly(U)と d(ADpAL) · 2poly(U)が同等の安定性を 示した. このことから d(ALpAD)と d(ADpAL)は, これら単独ではそれぞれ右巻き, 左巻きのらせん を形成しているが, poly(U)存在下では D-d(ApA) にはやや劣るもののほぼ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 三重鎖を形成しなかった L-d(ApA)は他の異性体 と比べ右巻きらせん形成能が著しく低下してい るために poly(U)と高次構造を形成できなかった と考えられる. Fig. 5 に示しているように, 今回 の DNA ダイマーでの結果は、ヘテロキラルな2 種のダイマー [d(ALpAD), d(ADpAL)] の poly(U) との三重鎖成能が類似しているが (Fig. 5A), へ テロキラルな RNA ダイマー [ALpAD, ADpAL] のそれは顕著に異なっている (Fig. 5B) 点で興 味深い.

3.4. 各 d(ApA)異性体のらせん構造と自己複製分子の化学進化に関する考察

現存生物の DNA や RNA の生合成反応は 5'→3'方向に鎖の伸長が行われており, 生命誕生 以前の自己複製分子の化学進化も同様の方向に 鋳型指示重合反応が起こったと考えると, 今回の 結果から次のような考察が可能であろう. DNA と RNA を比較すると, RNA のほうが鋳型指示重 合反応が効率よく進行するとされているが[11], homochiral selection の観点からは単に重合反応効 率だけでなく,同種のキラリティーを持つモノ マーやオリゴマー間での反応効率と,異種のキラ リティーを持つそれらの間での反応効率との比 が重要になってくる.

鋳型指示重合反応は鋳型上にモノヌクレオチ ドが整列して重合が進行するが,ダイマーの生成 速度がより長鎖のオリゴマーの生成に重要であ るとの報告がある [12]. このことは、ダイマー が鋳型指示重合反応において"核"となり、これを 足場にしてより長鎖のオリゴマーへ成長してい くことを示唆している.このような、ダイマーが "核"として重合反応に適した性質(プライマー活 性)を有するか否かが,鋳型指示重合反応の効率 を左右すると考えることができる.上述のように, 各 RNA ダイマーと poly(U)の三重鎖の安定性から、3'-末端側に L 型のアデノシンをもつ L-(ApA) およびADpALでは相補鎖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 マーは鋳型鎖との複合体形成に大きく不利に働 き、 プライマー活性が乏しく、 それ以降の伸長反 応がほとんど期待できない. 逆に, 3'-末端側に D 型のアデノシンをもつ D-(ApA)および ALpAD で は相補鎖 RNA との三重鎖が安定なため、プライ マー活性が高く,それ以降の重合もプライマー末 端と立体適合性の良い D 型のモノマーが取り込 まれやすくなり homochiral selectivity が発現しや すいと考えられる.

一方,今回の各 DNA ダイマーと poly(U)との 三重鎖の安定性は, D-d(ApA)の場合に最も高かっ たが,ついでヘテロキラルな d(ALpAD)と d(ADpAL)が同程度の安定性を示したが,これら



Figure 5. Histogram of melting temperatures of the triplexes formed by each isomer of DNA dimer (A) and RNA dimer (B) with poly(U).

2種のヘテロキラルダイマーの poly(U)との三重 鎖形成能は D-d(ApA)のそれと比べてやや劣るも のの顕著な差はなく、この3種のダイマーは基本 的に同レベルのプライマー活性を有すると考え られる.従って、プライマー活性をもつダイマー として、3'-末端側ヌクレオチド残基のキラリ ティーが異なるものが混在するため、DNA の場 合には RNA と比べ homochiral selection の観点で 不利になると考えられる.以上の結果は、自己複 製分子の化学進化を考える上で、重合効率、触媒 活性獲得能の点以外に homochiral selection の点に おいても DNA より RNA が優れている可能性が あったことを示すもので、酵素の存在しなかった 原始地球上ではこうした RNA の性質が、その自 己複製分子としての化学進化の方向を方向付け る上で不可欠であったかもしれない.

#### 4. 結論

d(ApA)の4種の光学異性体のらせん構造を CDスペクトルにより解析し,さらに poly(U)との 三重鎖の熱安定性の比較により各 d(ApA)異性体 の右巻きらせん性を評価した.この結果から,モ ノヌクレオチドの鋳型指示重合反応における homochiral selectionの問題を考えると,自己複製 分子として DNA よりむしろ RNA に優位性があ り,こうした側面からも RNA が生命の前駆物質 として化学進化したとする RNA ワールド仮説の 合理性が支持された.

#### 参考文献

- Gilbert, W. The RNA World, Nature 319, 618 (1986); Gesteland, R. F. and Atkins J. F. (Eds.) The RNA World, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1993.
- Joyce, G. F., Visser, G. M., van Boeckel, C. A. A., van Boom, J. H., Orgel, L. E. and van Westrenen J. Chiral selection in poly(C)-directed synthesis of oligo(G), Nature 310, 602-604 (1984).

- Schmidt, J. G., Nielsen, P. E. and Orgel, L. E. Enantiomeric cross-inhibition in the synthesis of oligonucleotides on a nonchiral template, J. Am. Chem. Soc. 119, 1494-1495 (1997).
- Ferris, J. P. and Ertem, G. Oligomerization of ribonucleotides on Montmorillonite: Reaction of the 5'-phosphorimidazolide of adenosine, Science 257, 1387-1389 (1992).
- 5. Urata, H., Fujimori, M., Aono, C., Yamakawa, T., E. Harada, and Akagi, M. Regio- and Diastereo-Selectivity of Montmorillonite-Catalyzed Oligomerization of Racemic Adenosine 5'-Phosphorimidazolide, Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 27, 421-430 (2008); Urata, H., Aono, C., Ohmoto, N., Shimamoto, Y., Kobayashi, Y. and Akagi, M. Efficient and Homochiral Selective Oligomerization of Racemic Ribonucleotides on Mineral Surface, Chem. Lett., 324-325 (2001); Joshi, P. C., Pitsch, S. and Ferris, J. P., Homochiral selection in the montmorillonite-catalyzed and uncatalized prebiotic synthesis of RNA, Chem. Commun. 2497-2498 (2000).
- Urata, H., Go, M., Ohmoto, N., Minoura, K. and 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).
- Urata, H., Go, M., Ohmoto, N. and Akagi, M. Helical structures of heterochiral adenylyl-(3'-5')-adenosines and their ability to form triple helix with poly(U), Viva Origino 30, 173-181 (2002).
- Tazawa, I., Tazawa, S., Stempel, L. M. and Ts'o, P. O. P. L-Adenylyl-(3'-5')-L-adenosine and L-adenylyl-(2'-5')-L-adenosine, Biochemistry 9, 3499-3514 (1970).
- Urata, H., Ogura, E., Shinohara, K., Ueda, Y. and Akagi, M. Synthesis and properties of mirror-image DNA, Nucleic Acids Res. 20, 3325-3332 (1992).
- Broka, C., Hozumi, T., Arenzen, R. and Itakura, K. Nucleic Acids Res. 8, 5461-5471 (1980).
- Zielinski, M., Kozlov, I. and Orgel, L. E. A comparison of RNA with DNA in template-directed synthesis, Helv. Chim. Acta 83, 1678-1684 (2000).
- Kawamura, K. and Umehara, M. Kinetic analysis of the temperature dependence of the template-directed formation of oligoguanylate from the 5'-phosphorimidazolide of guanosine on a poly(C) template with Zn<sup>2+</sup>, Bull. Chem. Soc. Jpn. 74, 927-935 (2000).