

ISMAR2023 参加報告書

京都大学大学院 エネルギー科学研究科 博士3年 阪本知樹

この度、日本核磁気共鳴学会 2023 年度 第1回若手研究者渡航奨励金によるご支援を頂きましたことを日本核磁気共鳴学会会長 藤原敏道先生、若手研究者渡航奨励金選考委員長 加藤晃一先生、故京極好正先生、故阿久津政明様、並びに審査や今回の学会参加に関して多大なるご支援をくださいました日本核磁気共鳴学会関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

私は本奨励金を賜りまして、2023年8月20日から25日、ブリスベンにて開催されました International Society of Magnetic Resonance (ISMAR) 2023 で研究発表を行って参りました。以下は6日間にわたって開催されました本国際会議の参加報告となります。

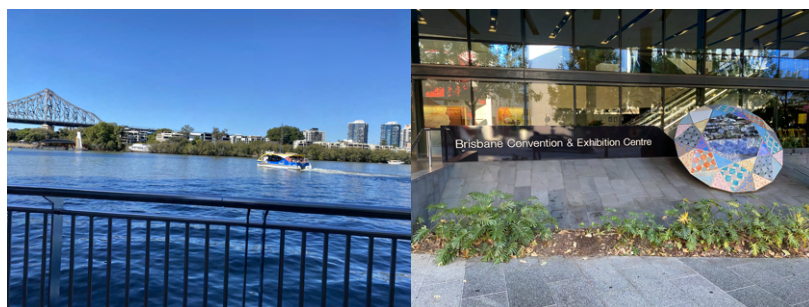


写真：開催初日、開会式直前

気候

夜や朝は少し肌寒く、日中は少し汗ばむくらいの、全体を通しとても過ごしやすい気候でした。真冬と聞いていたため、どれくらい寒いのだろうと少し怖い気持ちがありましたが、日本でいうと5月や10月くらいの気候に相当すると感じました。

本国際会議は川沿いに位置するBrisbane Convention & Exhibition Centreで開催され、この美しい川沿いの街で初めての国際会議に参加することができることを非常にうれしく思いました。



写真左：ブリスベンの町並み 写真右：Brisbane Convention & Exhibition Centre

本国際会議は3つのprize lecture、13のplenary lecture、75のinvited lecture、およそ100件のPoster Presentationから構成されていました。初日である8月20日の日曜日、現地協会の方によるアボリジニ方式のパフォーマンスを含む歓迎セレモニーから始まりました。このような開会式から始まる学会参加は初めてで、これが国際学会かと思い、わくわくする気持ちと、ここで発表をするんだという緊張感が走りました。

その後、3件のprize lectureが始まりました。Ad Bax先生、Ajoy Ashok先生のご講演と続き、中でもSongi Han先生(カリフォルニア大学サンタバーバラ校)のご講演「The Shape of Water on Active Surfaces」に圧倒されました。生体分子の構造形成や相互作用を正確に捉えるために最も基本的で重要な分子である水分子の力学的、構造的、熱力学的な性質を様々なNMR測定(動的核偏極、交差緩和、NMRだけでなくEPRも)によって特徴づけるという内容でした。

国際会議全体を通して、**NMRだからこそアクセスできる、分子の、オングストロームの分解能の根源的でダイナミックなふるまい**を捉えようとする情熱を感じることができ、その空気は非常に刺激的でした。また、AlphaFold2などの立体構造予測ソフトや機械学習、MDなどの実験以外の手法と組み合わせることが今後のNMR研究において重要であることが数多くの講演(Ad Bax先生のA look at the past and a glimpse at the future of biological NMR、Xue Yi先生のVisualizing base pair stability and dynamics in RNA using NMR spectroscopy and MD simulationsをはじめとした数多くの講演)で協調されていました。

いつも論文で名前をお見掛けすることしか叶わなかった国外の先生方(緩和分散測定においてAd Bax先生、Arthur Palmer先生、Xue Yi先生、核酸分野においてJunji Iwahara先生、Micheal Sattler先生、In-cell NMR測定においてFrancois-Xavier Theillet先生)のご講演を聞くことができました。

発表

私は3日目のポスターセッションで「Analyzing Dynamics of Base-Pair Opening in DNA Triplex Structures under Molecular Crowding Environment」というタイトルで発表を行いました。核酸が実際に働く細胞内は分子込み合い環境であり、このような環境では核酸の構造や熱力学的な特性が希薄溶液環境とは異なることが報告されています。しかし、このような環境下における**核酸分子"そのもの"が持つダイナミックなふるまい**(スナップショットでは見えない蠢きのようなもの)に与える影響はほとんど知られていません。

本研究では核酸の機能発現の基本的な要素の一つである鎖どうしの対合や開裂の速度を特徴づける**塩基対の開閉運動[1-4]に着目**して研究を行いました。標的とする核酸には、相同組み換えタンパク質の標的となりゲノムの不安定性や多様性の創出[5]、フリードライヒ運動失調症の発症(フラタキシン遺伝子のイントロン中のGAA配列の繰り返し数が増加することに起因する三重鎖構造の形成による発現量の低下が発症原因)[6]との関わりが指摘されている**DNA三重鎖構造**を選びました。このDNA三重鎖構造は私たちがin-cell NMR法[7-11]を用いて生きたヒト細胞内で原子分解能での構造形成を世界で初めて示した[12]構造のひとつでもあります。

今回は、分子込み合い環境を再現する試薬(Ficoll 70およびPEG 20)を用いて構築した系内におけるDNA三重鎖構造の塩基対の開閉運動を、塩基対中のイミノプロトンと系中の水プロトンの交換速度の解析やR1ρ緩和分散測定によって特徴付けました。分子込み合い環境では、排除体積効果の増加、水分子の活量低下などが核酸分子の振る舞いに影響を与える要因として考えられます。Ficoll 70およびPEG 20はそれらの効果をそれぞれ再現することを想定して研究に用いました。

本研究では、これらの効果がDNAの三重鎖構造そのものには大きな影響は与えず、しかし、鎖全体の熱安定性、塩基対ごとの安定性、塩基対の開閉運動のカイネティクスには影響を与えることを見出しました。

NMRを用いた原子分解能の解析により、**鎖全体に及ぼす影響は残基ごとに及ぼす影響の総和**であることを見出し、その中でも**全体の傾向に反する影響を受ける残基**も見出すことができました。これらの結果は、機能発現のために、**実際の細胞内でのみ姿を現す残基**の存在を想像させます。また、実際の細胞では排除体積効果の増加や水分子の活量低下に加えて特異的、非特異的に相互作用するタンパク質も存在による影響により、まだ見出されていない(鎖の分解能での振る舞いを観察するだけでは見えてこない)核酸分子のダイナミックで多様な(残基ごとの塩基対の安定性や局所的なコンフォメーション変化が起点となる)機能発現が数多く存在していることを想像させます。

本学会での発表は、初の国外での発表ということもあり英語でのディスカッションに大きな不安がりましたが、皆様丁寧に聞いていただき、また、国内から参加されていた先生方(竹内先生、齋尾先生、北沢先生をはじめとした様々な先生方)に勇気づけるお言葉も頂き、終えることが出来ました。渡航全体を通して、サイエンス、語学力、コミュニケーションや心構えの面など様々な課題を見つけることができ、またその課題に対する意見や解決策なども数多く頂き、考え見つめなおす機会となる、ものすごく実りの多い出張となりました。

さいごに

本学会で発表した研究は、博士課程学生として所属する研究室である京都大学エネルギー理工学研究所片平研究室で行われた研究です。指導教員である片平正人教授には素晴らしい研究環境を与えていただき、その遂行にあたって的確な助言をいただきましたことを心より御礼申し上げます。また同研究室の永田崇准教授、山置佑大助教には試料調製、NMR測定などの実験操作をはじめ、データ解析などあらゆる面で研究生生活を指導し支えてくださいましたことに多大な感謝の意を表します。また、データ解析やNMR装置の維持管理にご協力いただきました近藤敬子研究員(現京都大学エネルギー理工学研究所附属カーボンネガティブ・エネルギー研究センター特定准教授)、NMR装置の維持管理にご協力いただきました才村正幸技術職員に感謝致します。そして、片平研究室の皆様、研究以外の様々な面においても支えていただきましたことを深く感謝致します。そして本研究は『特別研究員奨励費：22J11061』の補助を受けて遂行されました。

最後に、本渡航で得た経験を、今後私がNMR研究者として日本核磁気共鳴学会において貢献するための力とし、日本核磁気共鳴学会のさらなる発展に貢献できるようさらなる研鑽を続けて参ります。改めまして、日本核磁気共鳴学会 2023 年度 第1回若手研究者渡航奨励金によるご支援を頂き ISMAR 2023にて研究発表をする機会を頂けましたことを、日本核磁気共鳴学会会長 藤原敏道先生、若手研究者渡航奨励金選考委員長 加藤晃一先生、故京極好正先生、故阿久津政明様、並びに今回の学会参加に関して多大なるご支援をくださいました日本核磁気共鳴学会関係者の皆様に重ねて厚く御礼申し上げます。ありがとうございました。

参考文献

1. Bei Liu, Honglue Shi, Atul Rangadurai, Felix Nussbaumer, Chia-Chieh Chu, Kevin Andreas Erharder, David A. Case, Christoph Kreutz, and Hashim M. Al-Hashimi, A quantitative model predicts how m6A reshapes the kinetic landscape of nucleic acid hybridization and conformational transitions. *Nat. Commun.*, 2021, **12**, 5201.
2. Honglue Shi, Bei Liu, Felix Nussbaumer, Atul Rangadurai, Christoph Kreutz, and Hashim M. Al-Hashimi, NMR Chemical Exchange Measurements Reveal That N6-Methyladenosine Slows RNA Annealing. *J. Am. Chem. Soc.* 2019, **141**, 19988-19993.
3. Atul Rangadurai, Honglue Shi, Yu Xu, Bei Liu, Hala Abou Assi, John D. Boom, Huiqing Zhou, Isaac J. Kimsey, and Hashim M. Al-Hashimi, Measuring thermodynamic preferences to form non-native conformations in nucleic acids using ultraviolet melting. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2022, **119**, e2112496119.
4. Ayako Furukawa, Erik Walinda, Kyohei Arita, Kenji Sugase, Structural dynamics of double-stranded DNA with epigenome modification. *Nucleic Acids Research*, 2021, **49**(2), 1152-1162.
5. Guliang Wang and Karen M. Vasquez, Dynamic alternative DNA structures in biology and disease. *Nat. Rev. Genet.* 2023, **24**, 211-234.
6. Moganty R Rajeswari, DNA triplex structures in neurodegenerative disorder, Friedreich's ataxia, *J. Biosci.* 2012, **37**, 519-532.

7. Omar Eladle, Yudai Yamaoki, Keiko Kondo, Takashi Nagata, Masato Katahira, Complex Formation of an RNA Aptamer with a Part of HIV-1 Tat through Induction of Base Triples in Living Human Cells Proven by In-Cell NMR. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, **24**(10), 9069.
8. Omar Eladle, Yudai Yamaoki, Keiko Kondo, Takashi Nagata, Masato Katahira, Detection of interaction between an RNA aptamer and its target compound in living human cells using 2D in-cell NMR. *Chem. Commun.*, 2023, **59**, 102-105.
9. Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Keiko Kondo, Tomoki Sakamoto, Shohei Takami, Masato Katahira, Shedding light on the base-pair opening dynamics of nucleic acids in living human cells. *Nat. Commun.*, 2022, **13**, 7143.
10. Yudai Yamaoki, Ayaka Kiyoshi, Masayuki Miyake, Fumi Kano, Masayuki Murata, Takashi Nagata, Masato Katahira, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2018, **20**, 2982-2985.
11. Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Tomoki Sakamoto, Masato Katahira, The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells. *Biophys. Rev.*, 2020 **12**, 411-417.
12. Tomoki Sakamoto, Yudai Yamaoki, Takashi Nagata, Masato Katahira, Detection of parallel and antiparallel DNA triplex structures in living human cells using in-cell NMR. *Chem. Commun.*, 2021, **57**, 6364-6367.