

# 核酸・多糖複合体における分子認識メカニズムの研究と遺伝子マニピレーター創製

櫻井 和朗

北九州市立大学 国際環境工学部 環境化学プロセス工学科

## 1. 研究のねらい

我々が始めて発見した核酸と天然多糖  $\beta$ 1-3グルカン複合体に関して、その基礎的性質と構造を明らかにして、複合体形成の機構を探ると共に、機能的オリゴ核酸のデリバリーシステムへの応用を目指した。

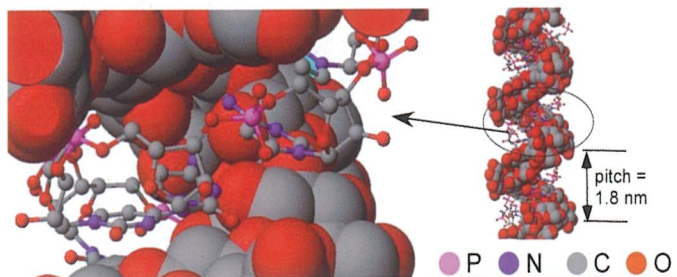


図1 MOPACで得られたpoly(C)/SPG複合体の構造。  
糖はCPK、核酸は棒モデルで示してある。

## 2. 研究成果と考察

### 複合体の構造

$\beta$ 1-3グルカンの1種であるカードランとホモ核酸poly(C)との複合体について、分子動力学とMOPACを組み合わせて、最安定な状態を計算したところ、図1に示すように、糖鎖2本と核酸鎖1本からなる3重らせん構造をとっていることが示された。このような複合体の棒状形態は、SEMやAFMからも確認された。また、WAXSからも塩基が分子軸に垂直な方向にスタッキングしていることが示された判明した。

### 複合体の基礎物性

poly(C)やpoly(dA)との複合体に関して検討したところ、DNAの2重螺旋らせんと類似した協同的な解離現象、核酸選択性などの興味深い現象が観測された。とくに、poly(U)との複合体では、カチオン種選択的に複合体が形成され、且つ、クリプタンドでカチオンの濃度を変化させると、それに伴い複合体の形成のオン・オフができた。

### 機能的オリゴ核酸のデリバリーシステムへの応用

$\beta$ 1-3グルカンの1種であるシゾフィランの側鎖を選択的に化学修飾して機能性の官能基を導入する方法を確立した。このようにして得られたオリゴペプチド修飾シゾフィランを用いてアンチセンスDNAや免疫刺激性CpGモチーフの細胞導入を試みた。複合体は血漿タンパク質とオリゴ核酸との非特異的結合やDNaseによる核酸の分解を防ぎながら、核酸を細胞膜近傍に輸送し、修飾したオリゴペプチドでエンドサイトーシスを誘発して、核酸の細胞内取り込みを増幅できることが判明した。この結果、選択的にmRNAの発現のを抑制が行われたり、サイトカインが効果的に誘発されることが分かった。

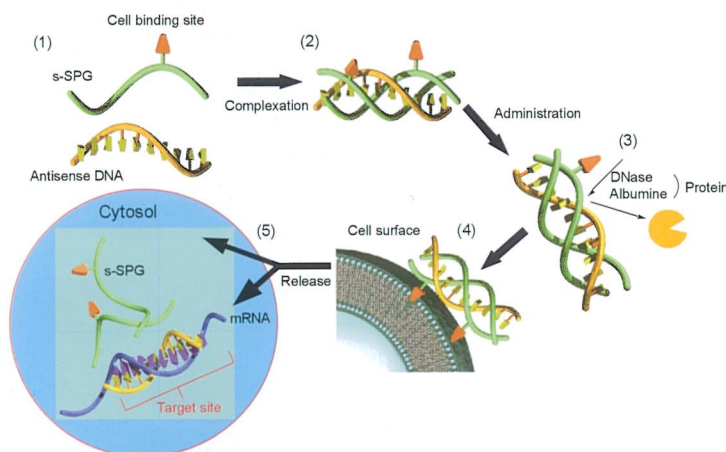


図2 化学修飾したシゾフィランを用いた機能オリゴDNAのデリバリーシステムの概念図。図はアンチセンス鎖の輸送であるが、ターゲット細胞を抗原提示細胞として、核酸をCpGモチーフにすると、サイトカインは誘発される。

### 3. 結語と今後の展望

さきがけの3年間で、複合体の基礎物性の解明から応用展開までを行うことができた。本研究を通じて、アンチセンス等の機能性核酸のデリバリーの分野にで新しい方法論を提案できたと信じる。これは、基本的な構造と物性の関係を明らかにした上で始めて可能となったと考える。 $\beta$ 1-3グルカンは漢方薬の成分として免疫系を活性化することが古くから知られているが、その分子論的メカニズムは明らかになっていない。今後はその神秘的な性質の解明にも挑戦していきたい。

#### 投稿論文

M. Mizu, K. Koumoto, T. Kimura, K. Sakurai, S. Shinkai, *Polym. J.*, 35, 714-720 (2003)

“Polysaccharide-polynucleotide complexes Part 17. Solvent effects on conformational-transition of polydeoxyadenylic acid in the complex with schizophyllan”

A. H. Bae, S. W. Lee, M. Ikeda, M. Sano, S. Shinkai, K. Sakurai, *Carbohydr. Res.*, in press.” Rod-like architecture and helicity of the poly(C)/schizophyllan complex as observed by AFM and SEM”

M. Mizu, K. Koumoto, T. Kimura, K. Sakurai, S. Shinkai, *Biomaterials*, in press.

“Protection of polynucleotides against nuclease-mediated hydrolysis by complexation with schizophyllan”

K. Sakurai, R. Iguchi, M. Mizu, K. Koumoto, S. Shinkai, *Bioorg. Chem.*, 31, 216-226 (2003). “Polysaccharide-Polynucleotide Complexes Part 7. Hydrogen-ion and Salt Concentration Dependence of Complexation between Schizophyllan and Single-Stranded Homo RNAs”

K. Sakurai, R. Iguchi, K. Koumoto, T. Kimura, M. Mizu, Y. Hisaeda, S. Shinkai, *Biopolymers*, 65, 1-9 (2002). “Polysaccharide-polynucleotide Complexes Part 8. Cation Induced Complex Formation between Polyuridylic Acid and Schizophyllan”

K. Sakurai, M. Mizu, S. Shinkai, *Biomacromolecules*, 2, 641-650 (2001). “Complementary polynucleotide mimetic behavior of a Natural polysaccharide: Schizophyllan in the Macromolecular Complex with a Single stranded RNA: Poly(C)”

M. Mizu, T. Kimura, K. Koumoto, K. Sakurai, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, 2001, 429-430. “Thermally induced conformational-transition of polydeoxyadenosine in the complex with schizophyllan and the base-length dependence of its stability”

K. Koumoto, T. Kimura, M. Mizu, K. Sakurai, S. Shinkai, *Chem. Commun.*, 2001, 1962-1963. “Chemical modification of schizophyllan by introduction of a cationic charge into the side chain which enhances the thermal stability of schizophyllan / poly(C) complexes”

K. Sakurai, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 4520-4521 (2000).

“Molecular recognition of Adenine, Cytosine, and Uracil in a Single-Stranded RNA by a Natural polysaccharide: Schizophyllan”

#### 解説

櫻井和朗, 新海征治 多糖・核酸からなる3重らせんの発見とその応用  
高分子, 51 (8), 603-606 (2002)

#### 特許

「多糖を利用する遺伝子キャリアーとその製造方法」(PCT国際出願)