

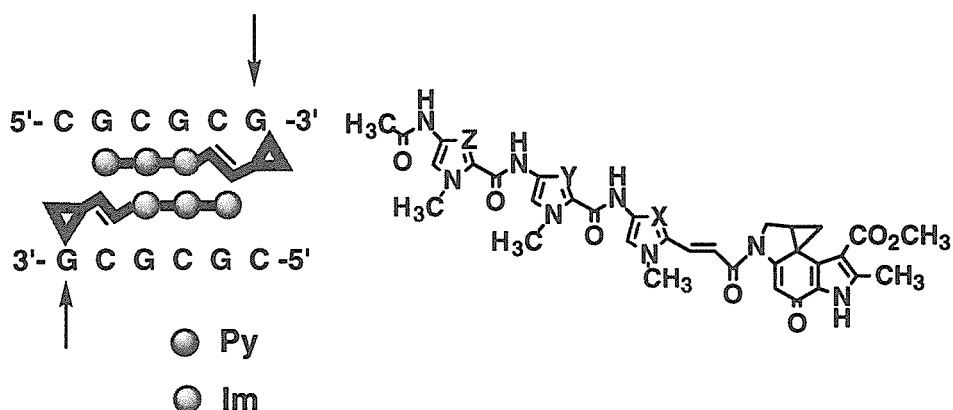
# 生体機能分子の設計と精密分子認識に基づく反応制御

研究代表者 (京大院工)

齋藤 烈

## 1. ホモダイマー形成によりDNAをダブルアルキル化するドラッグ

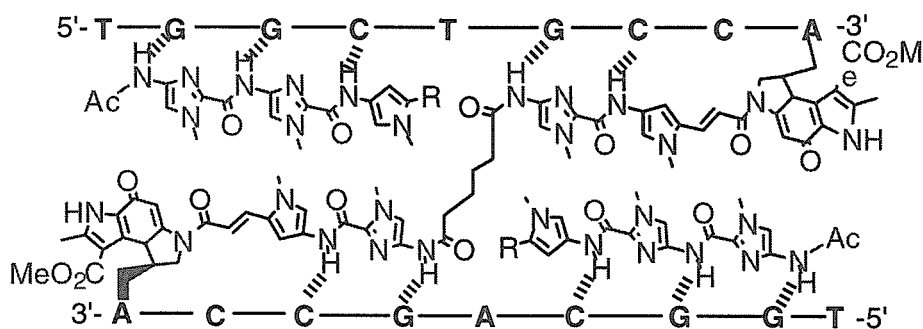
抗がん性抗生物質デュオカルマイシンAのアルキル化部分にビニルリンカーを介してピロールイミダゾールポリアミドを結合させた下記のドラッグは、2量体となってDNAを配列選択的DNA鎖をアルキル化する。例えばImPyLDu86はPyG(T/A)CPu配列で効率良くダブルアルキル化する。さらに結合部位をのぼしたImPyImLDu86ではCGCGCG配列で高い選択性でダブルアルキル化を引き起こすことが示された。



## ホモダイマーにより6塩基対を認識しダブルアルキル化するドラッグ

## 2. 高い配列特異性をもつインターストランドクロスリンカーの設計

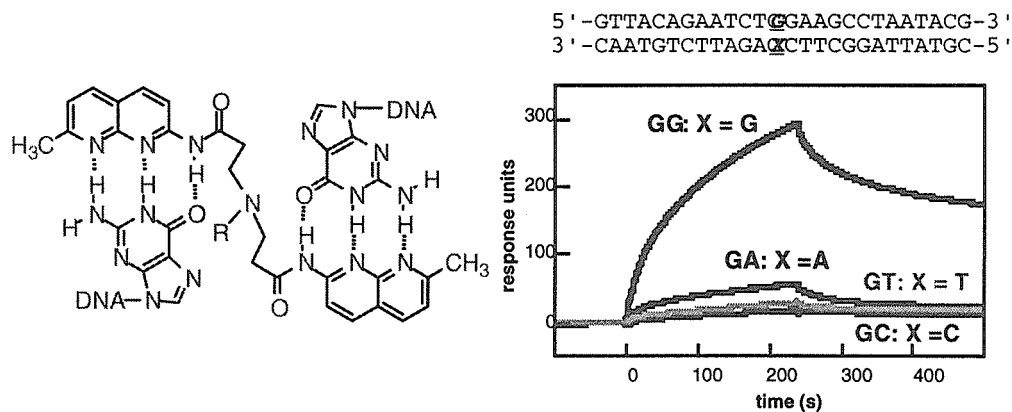
DNAの2本鎖を共有結合で結ぶインターストランドクロスリンクは、完全にDNAの複製や転写を阻害するため、強い抗がん活性が期待できる。効率良くDNAをアルキル化するImPyLDu86を様々なリンカーで結んだ2量体分子を合成し、そのインターストランドクロスリンク能を検討し、下記のドラッグがパートナー分子であるImImPy存在下DNAとインタークロスリンクすることを明らかにした。



## インターストランドクロスリンカーの設計

### 3. ミスマッチ塩基対を認識する分子のデザインと簡便なSNP検出法の開発

ポストゲノムでは、DNAレベルでの個人差すなわち一塩基遺伝子多型 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) を迅速、簡便、安価に検出する手法の開発が、極めて重要かつ緊急の課題となってきた。我々は昨年報告したグアニンバルジを含むDNAの認識手法を拡張することにより、グアニン-グアニン (G-G) ミスマッチ塩基対を持つDNAに特異的に結合する分子の開発に成功した。開発した分子は、グアニン塩基を認識するナフチリジン(2)を2分子持つ二量体構造を持ち、それぞれのナフチリジンがDNAに挿入してグアニン塩基と水素結合を形成しているものと考えている。

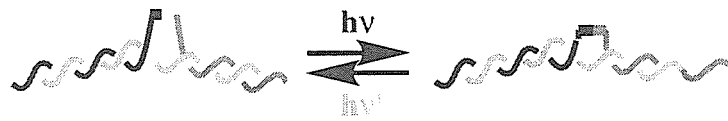


この分子を金表面に固定化したチップは、表面プラズモン共鳴測定によりG-Gミスマッチ塩基対を持つ二本鎖DNAを高感度で検出できることが示された。

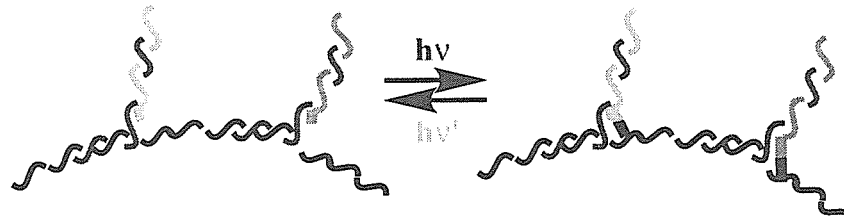
### 4. 光を用いる遺伝子操作手法の開発

ウラシルの5位に二重結合を持つ新規に開発した核酸塩基をDNAの5'末端に導入することにより、長鎖DNAの末端同士をテンプレート存在下で光照射をトリガーとして効率よく連絡する新手法 (photoligation) を開発した。短波長照射でDNAをその位置で切断できるので、光の波長によりON-OFFできるDNA鎖伸長反応を行う事が出来る。この方法で、環状DNA、DNAカタナン、DNAのクリッピング、枝分かれ(Branched) DNA, DNA-PNA キメラ等、さまざまなDNAを可逆的に作りだすことが出来る。これにより、次世代での大躍進が期待されるレーザー遺伝子操作法やレーザーバイオテクノロジーの基礎が確立したので、より長波長でより高効率に作動するシステムへの改良が現在行われている。また、この方法のDNA nanotechnology への応用も現在検討している。

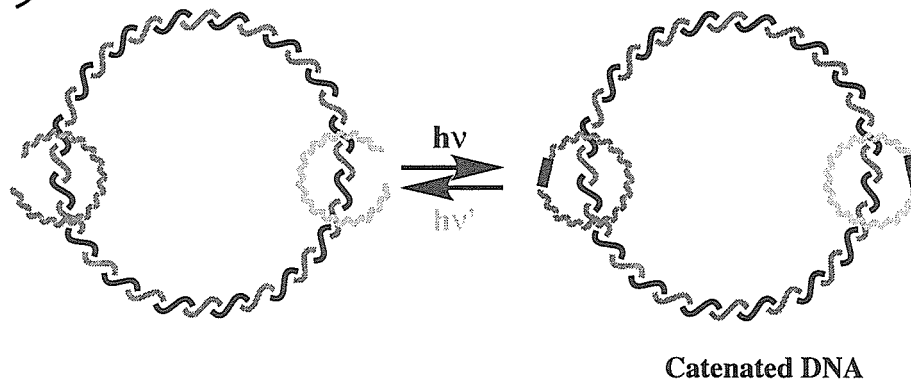
## Reversible DNA Ligation



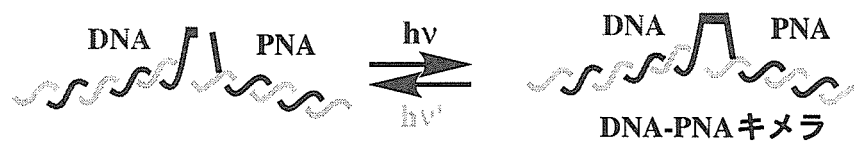
## 枝分かれDNA



## DNA カテナン



## DNA-PNA Ligation



## 光を用いた遺伝子操作手法の開発

### 5. 今後の課題

任意の配列でDNAをアルキル化するドラッグの開発に関しては、抗がん剤だけの用途でなく、ジーンブロッカーとして遺伝子工学への応用も考えている。遺伝子診断薬の開発では、GG以外のミスマッチ塩基を認識する化合物を開発することが急務である。GA, GT, TTミスマッチの認識化合物の開発はそう簡単にはいかないと思うが、現在数多くの化合物を合成・検索している。DNAの光連結手法の開発は、将来極めて有望な遺伝子操作法となる可能性が大であり、現在十数種の光化学的に活性なヌクレオシドを合成し、さらに効率の良い方法を開発中である。