

研究課題別評価

1 研究課題名: DNA - ドラッグ間相互作用の精密制御

2 研究者氏名: 中谷和彦

グループメンバー: 小堀哲夫:平成 14 年 4 月 1 日～平成 14 年 9 月 30 日
萩原伸也:平成 15 年 4 月 1 日～平成 15 年 5 月 31 日
Peng Tao:平成 15 年 9 月 1 日～平成 17 年 3 月 31 日
萩原正規:平成 16 年 10 月 16 日～平成 17 年 3 月 31 日

3 研究の狙い:

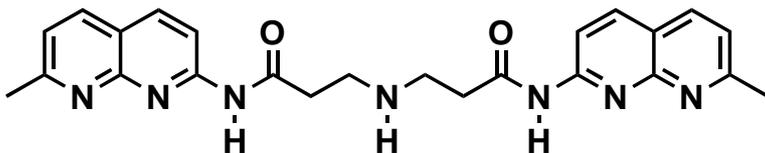
ヒトの遺伝子配列がほぼ明らかにされ、遺伝子科学の研究は急速に進展している。その具体的な成果の一つとなる「標的遺伝子のドラッグによる発現制御」、即ち遺伝子の複製、転写、翻訳の阻害あるいは活性化を実現するには、DNA 配列を高精度に認識、結合するドラッグが必要である。しかし、「遺伝子の配列情報を基に、ドラッグを分子設計する」ことは、現在の有機化学のレベルでは不可能に近い。飛躍的な技術革新が続く遺伝子科学に追いついていくには、有機化学研究における技術的、概念的ブレイクスルーが不可欠である。我々は精密有機化学レベルでのドラッグと DNA の反応、認識に関する研究から、核酸塩基と相補的な水素結合部位を持つ擬似塩基の二量体を用いて、世界で初めてミスマッチ DNA の認識に成功した。本研究では、我々が世界に先駆けて発見した擬似塩基二量体を用いるミスマッチ塩基対の認識モチーフを、ワトソン-クリック型 G-C、A-T 塩基対に拡張、一般化し、DNA 塩基配列認識の新技术として完成させ、遺伝子科学における有機化学のさらに高次のブレイクスルーを目指した。

4 研究の成果:

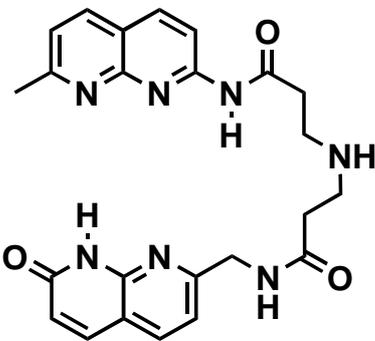
1) 新規な遺伝子変異(一塩基多型)の検出法を開発した。

具体的には、DNA ミスマッチ塩基対を認識する分子の開発を行い、先に見出していた G-G ミスマッチ認識分子に加えて、G-A と C-C ミスマッチ認識分子の開発に成功した。

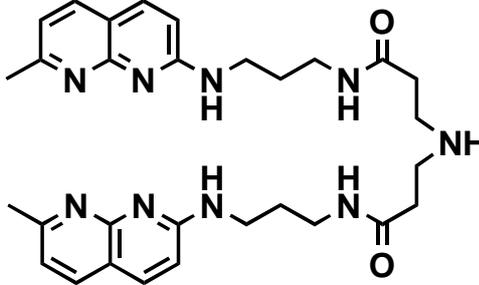
G-G ミスマッチ認識分子



G-A ミスマッチ認識分子



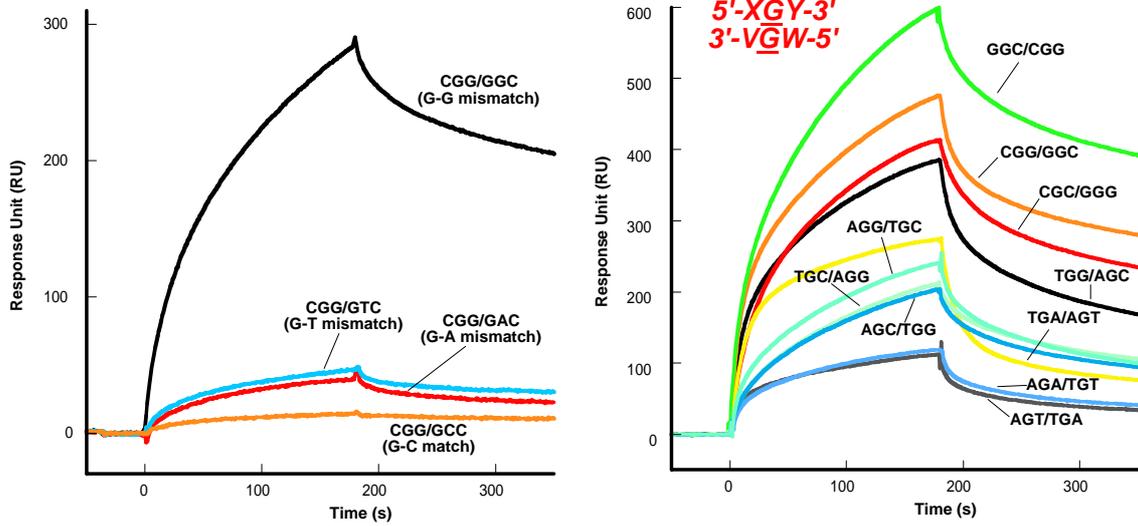
C-C ミスマッチ認識分子



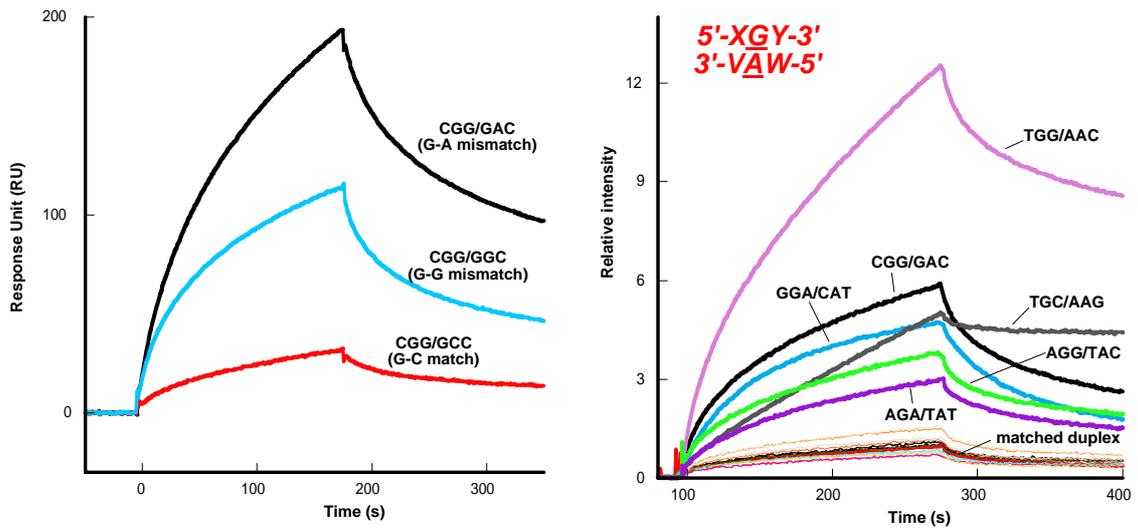
2) ミスマッチ認識表面プラズモン共鳴センサーの開発

上記ミスマッチ認識分子を表面プラズモン共鳴 (SPR) センサー上に固定化し、DNA 二本鎖中のミスマッチを検出するセンサーの作成に成功した。

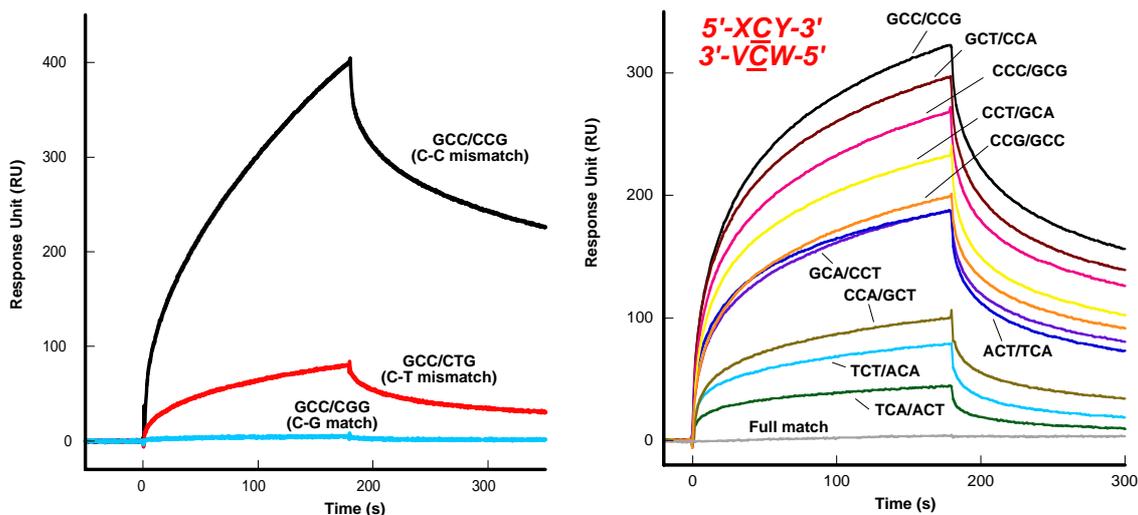
2 - 1) G - Gミスマッチ認識分子固定化 SPR センサーによる G - Gミスマッチ検出



2 - 2) G - Aミスマッチ認識分子固定化 SPR センサーによる G - Aミスマッチ検出



2 - 3) C - Cミスマッチ認識分子固定化 SPR センサーによる C - Cミスマッチ検出



3) RNA - タンパク結合阻害分子の開発

HIV - 1のRevタンパクとの相互作用に重要な役割を果たすHIV - 1 mRNAの特異構造 (RRE) に結合する分子を開発し、Rev - RRE 結合阻害分子が分子設計できることを実証した。

4) ミスマッチ認識分子がDNAの繰り返し構造に結合することを見出した。

重篤な遺伝子疾患であるトリプレットリピート病の原因遺伝子が形成する特異なヘアピン構造に、ミスマッチ認識分子が結合することを示し、トリプレットリピート病の発症予測に役立つプローブやセンサーの開発、治療薬剤の分子設計指針を初めて示した。また、テロメア配列にヘアピン構造を誘起することを確認し、抗癌剤のリード化合物を提案した。

5 自己評価:

当初の研究目標としてワトソン・クリック塩基対 (A - T, G - C) の認識を設定し、ミスマッチ塩基対認識分子の複合化によりワトソン・クリック塩基対を試みたが達成できなかった。DNAの安定性が向上するため、分子が結合する最初の取りかかりが無くなったためと考えている。この点に関しては構想レベルから研究を再構築する必要が生じ、本研究期間内に実現できなかったことは残念である。

一方、ミスマッチ認識分子が当初想定していた遺伝子変異の検出にとどまることなく、RNA - タンパク結合阻害やトリプレットリピート配列への結合、テロメア配列への結合など、核酸の重要構造に結合し生物活性を示す化合物分であることが明らかとなった。これらの発見により、有機化学を基盤とした分子設計が遺伝子科学に大きく貢献できることを明示でき、本研究の大きな成果であると考えている。

6 研究総括の見解:

DNA中の塩基対の認識方法に、すでに見出していた方法の効果的な展開がはかられている。特に、ミスマッチ塩基対を認識する分子の設計と開発に成功しており、将来の診断や治療への応用の可能性を開いた。有機化学がDNA科学に大きく寄与できることを示した点が高く評価できる。

7 主な論文等:

7 - 1) 論文

(1) Photochemistry of Benzophenone Immobilized in a Major Groove of DNA: Formation of Thermally Reversible Interstrand Cross-link, Nakatani, K.; Yoshida, T.; Saito, I. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 2118 - 2119

- (2) Suppression of DNA-Mediated Charge Transport by BamH I Binding, Nakatani, K.; Dohno, C.; Ogawa, A.; Saito, I. *Chem. Bio.* 2002, 9, 361-366.
- (3) N²-Phenyldeoxyguanosine: Modulation of the Chemical Property of Deoxyguanosine toward One Electron Oxidation in DNA, Nakatani, K.; Dohno, C.; Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 6802-6803.
- (4) Chemically Induced Hairpin formation in DNA Monolayers, Smith, E. A.; Kyo, M.; Kumasawa, H.; Nakatani, K.; Saito, I.; Corn, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 6810-6811.
- (5) Guanine of the Third Strand of C.G*G Triplex Serves as an Effective Hole Trap, Dohno, C.; Nakatani, K.; Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 14580-14585.
- (6) Induction of a Remarkable Conformational Change in a Human Telomeric Sequence by the Binding of Naphthyridine Dimer: Inhibition of the Elongation of a Telomeric Repeat by Telomerase, Nakatani, K.; Hagihara, S.; Sando, S.; Sakamoto, S.; Yamaguchi, K.; Maesawa, C.; Saito, I., *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 662-666.
- (7) Assessment of the Sequence Dependency for the Binding of 2-Aminonaphthyridine to the Guanine Bulge, Nakatani, K.; Horie, S.; Murase, T.; Hagihara, S.; Saito, I., *Bioorg. Med. Chem.* 2003, 11, 2347-2353.
- (8) Formation and Destruction of the Guanine Quartet in Solution Observed by Cold-Spray Ionization Mass Spectrometry, Sakamoto, S.; Nakatani, K.; Saito, I.; Yamaguchi, K., *Chem. Commun.* 2003, 788-789.
- (9) Affinity Labeling of a Single Guanine Bulge, Nakatani, K.; Horie, S.; Saito, I., *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 8972-8973.
- (10) Hole Trapping at N⁶-Cyclopropyldeoxyadenosine Suggests a Direct Contribution of Adenine Bases to Hole Transport through DNA, Dohno, C.; Ogawa, A.; Nakatani, K.; Saito, I. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 10154-10155.
- (11) The SPR Sensor Detecting The Cytosine-Cytosine Mismatches, Kobori, A.; Horie, S.; Suda, H.; Saito, I.; Nakatani, K. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 557-562.
- (12) Detection of Guanine-Adenine Mismatches by Surface Plasmon Resonance Sensor carrying Naphthyridine-Azaquinolone Hybrid on the Surface, Hagihara, S.; Kumasawa, H.; Goto, Y.; Hayashi, G.; Kobori, A.; Saito, I.; Nakatani, K. *Nucleic Acids Res.* 2004, 32, 278-286.
- (13) Highly Sensitive Detection of GG Mismatched DNA by Surfaces Immobilized Naphthyridine Dimer through Poly(ethylene oxide) Linkers, Nakatani, K.; Kobori, A.; Kumasawa, H.; Saito, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 1105-1108.
- (14) Solvent Effects on the Suppression of Oxidative Decomposition of Guanine by Phenyl Group Attachment in DNA, Yokojima, S.; Okada, A.; Yano, W.; Yoshiki, N.; Kurita, N.; Tanaka, S.; Nakatani, K. *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 7500-7505.
- (15) The binding of Guanine-Guanine Mismatched DNA to Naphthyridine Dimer Immobilized Sensor Surfaces: Kinetic Aspects, Nakatani, K.; Kobori, A.; Kumasawa, H.; Goto, Y.; Saito, I. *Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12, 3117-3123.
- (16) 2-Ureidoquinoline: a useful molecular element for stabilizing single cytosine and thymine bulges, Kobori, A.; Murase, T.; Suda, H.; Saito, I.; Nakatani, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 3431-3433.
- (17) Chemistry challenges in SNP typing, Nakatani, K. *ChemBioChem.* 2004, 5, 1623-1633.
- (18) A new ligand binding to G-G mismatch having improved thermal and alkaline stability, Peng, T.; Murase, T.; Goto, Y.; Kobori, A.; Nakatani, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 259-262.

7-2)特許

- (1) 「テロメアなどに結合し得る分子、それを用いた方法」
特開2002-30094号
国際出願 PCT/JP01/06150
- (2) 「バルジ塩基検出分子」
特願2002-61945号
- (3) 「ミスマッチ検出分子」
特願2002-61705号
- (4) 「グアニンバルジ修飾分子」
特願2002-62883号
- (5) 「ミスマッチ検出分子およびミスマッチ検出方法、並びにその利用」
特願2003-054674号
- (6) 「ミスマッチ認識分子およびミスマッチ検出方法、並びにその利用」
特願2003-054700号
- (7) 「バルジ塩基認識分子およびバルジ塩基検出方法」
特願2003-054707号
- (8) 「テロメア等に結合し得る分子およびその利用法」
特願2003-054711号
- (9) 「阻害剤」
特願2003-054725号
- (10) 「ミスマッチ検出分子およびそれを用いたミスマッチの検出方法」
特願2003-115609号
- (11) 「プローブの蛍光標識化方法」
特願2003-178902号
- (12) 「核酸のミスマッチ塩基対検出方法」
特願2004-282236号

7-3)受賞

第二回大阪バイオビジネスコンペ(2002年) 審査員奨励賞

「ミスマッチ検出による SNP(遺伝子の一塩基多型)診断チップの開発」

7-4)招待講演

- 1) 2002年第75回日本生化学会シンポジウム
「SPR によるミスマッチDNAの検出」
- 2) 2002年第8回機能性ホスト・ゲスト研究会サマーセミナー
「ミスマッチDNAの認識」
- 3) 2002年第5回CREST 計算化学研究会
「Simulation-Aided DNA Chemistry」
- 4) 2002年京都大学工学研究科物質エネルギー化学攻分子特別セミナー
「DNAと有機化学：反応と認識」
- 5) 2002年日本電子マスマユーザーミーティング
「DNAミスマッチ塩基対の認識 ミSNPタイピングへの応用-」
- 6) 2003年第5回生命化学研究会
「DNAの特異構造を認識するドラッグの分子設計」
- 7) 2003年日本薬学会123年会シンポジウム(有機化学のフロンティア)
「ミスマッチ認識リガンドを用いる SNP タイピング」
- 8) 2003年大阪府立大学白鷺セミナー

- 「DNAに結合する有機分子リガンドの分子設計」
- 9) 2003年 JST シンポジウム「生体高分子モデリングの新たな世界」
「ゲノムケミストリーを支える分子設計」
- 10) 2003年第52回高分子討論会
「ミスマッチ検出チップの開発」
- 11) 2003年東京大学工学研究科化学生命工学セミナー
「核酸の特異構造を認識する分子の設計」
- 12) 2003年東京大学薬学研究科
「特異な核酸構造に結合する低分子リガンドの開発」
- 13) 2004年大阪大学産業科学研究所シンポジウム「DNAの機能化学」
「ミスマッチ検出表面プラズモン共鳴センサーの開発」
- 14) 2004年 JST 異分野研究者交流フォーラム「ゲノムケミストリーに基づく総合的遺伝子診断・治療法の新技术創出」
「核酸結合性分子の新機能創出」
- 15) 2004年第4回大阪工業大学バイオベンチャーフォーラム
「ミスマッチ検出表面プラズモン共鳴センサーの開発、
SNP タイピングの新手法」
- 16) 2004年 日本化学会年会特別講演
「ミスマッチ結合リガンドによる SNP 検出法の開発」
- 17) 2004年慶應義塾大学 21世紀 COE プログラム KEIO LCC 講演会
「ミスマッチ検出 SPR センサーの開発、一塩基変異の検出に向けて」
- 18) 2004年 JST・SORST ジョイントシンポジウム(1)
「DNA コンジュゲートケミストリー」
「ミスマッチ認識に基づいた SNPs (遺伝子一塩基多型) 検出センサーの開発」
- 19) 2004年 日本学術振興会 薄膜第131委員会 第221回研究会
「表面プラズモン共鳴による DNA ミスマッチ評価」
- 20) International Symposium on Bioorganic Chemistry 2002 (ISBOC6) (Toronto)
August 2002, 「Molecular Design of Mismatch DNA-binding Ligands:
Application to the Detection of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)」
- 21) International Conference of Photochemistry 2003 (NARA) July 30,
「The Charge Transport in Duplex DNA containing Hole-Trapping Nucleotide
Bases」
- 22) 2nd Japanese-Sino Symposium on Organic Chemistry for Young Scientists 2003
(Nagoya) September 23,
「Molecular Design of Ligands Binding to Mismatched Base Pairs in Duplex DNA」
- 23) Tateshina Conference on Organic Chemistry 2003 (Nagano) November 16,
「Small Molecular Ligands Binding to Mismatched DNA」