

# ペプチドリボ核酸-DNA キメラ人工核酸の合成と核酸認識および遺伝情報発現制御への展開

## Synthesis and Interaction Behavior of Peptide Ribonucleic Acid (PRNA)-PNA-DNA Chimeras and Application to Expression Control of Genetic Information

上松亮平<sup>1</sup>、水谷達哉<sup>1</sup>、荒木保幸<sup>1</sup>、坂本清志<sup>1</sup>、山吉麻子<sup>2</sup>、村上章<sup>2</sup>、和田健彦<sup>1</sup>  
(東北大多元研<sup>1</sup>・京都工繊大院工芸<sup>2</sup>)

我々は、がん細胞特異的核酸医薬の創製を目指し、ペプチドリボ核酸 (PRNA) を設計・合成し、その特性について報告してきた<sup>1)</sup>。PRNA はがん細胞環境下(pH 6.2)では、標的 RNA と塩基配列特異的に安定な錯体を形成し、効果的な治療薬として作用する。一方、正常細胞環境下(pH 7.2)では、塩基部の *syn* 配向への構造変化に基づく水素結合形成能の *off* スwitchングにより RNA, DNA と相互作用せず、副作用・毒性のない理想的な核酸医薬として期待される新規人工核酸である。しかし、RNA との錯体安定性は中程度で、RNase H の基質になりにくい等遺伝子治療薬としてはいくつか改善すべき点も有していた。

このような背景を踏まえ、本研究では、「モジュール法」と名付けた新規合成法を PRNA に適用し、標的 RNA との錯体が十分な安定性を示し、かつ RNase H の基質となり、標的 RNA に対して触媒量でも高い核酸医薬効果発現が期待できる PRNA-PNA-DNA キメラ人工核酸 (P<sub>R</sub>PD, 図 1) の設計・合成、そして標的 RNA との相互作用挙動解析ならびに P<sub>R</sub>PD・RNA 錯体の RNase H による切断活性を検討した。

P<sub>R</sub>PD は酸性条件下、分解反応が報告されている DNA 部位を有するため、DNA の切出しと同時に塩基性条件で脱保護可能な Bz 基で保護した PNA, PRNA モノマーの新規合成に取組み、比較的高収率で目的化合物が得られる合成法を確立した。P<sub>R</sub>PD は、DNA 自動合成機によりアミノ末端を導入した DNA 誘導体を合成した後、CPG 上で Bz 保護モノマーを用いた Fmoc ペプチド固相合成により PNA, PRNA を導入し、HPLC 精製により得た。また、P<sub>R</sub>PD に細胞内環境応答性を付加するため、フェニルボロン酸を分子内に組込んだ新規 P<sub>R</sub>PD の設計・合成にも取り組んだ。

得られた P<sub>R</sub>PD は標的 RNA 認識、プロテアーゼ耐性において良好な結果を示した。さらに、P<sub>R</sub>PD/RNA 錯体の RNase H による RNA 切断活性を詳細に検討した結果、対応する DNA/RNA 錯体に比較して 20 倍程度の非常に高い RNA 選択的切断活性を有することが明らかとなった。RNase H による切断反応を詳細に検討した結果、*k*<sub>cat</sub>、*K*<sub>m</sub> とも有利に作用している事が示唆された。ITC 測定による熱力学的パラメータも算出したので併せて報告する。

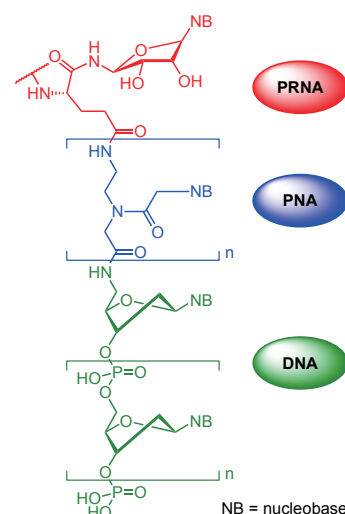


図 1 キメラ人工核酸 (P<sub>R</sub>PD)

### <参考文献>

1)(a) T. Wada; N. Minamimoto; Y. Inaki; Y. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (29), 6900-6910; (b) 和田健彦, 刺激応答性人工核酸, *核酸化学のニュートレンド-DNA・RNA の新たな可能性を拓く*-, 化学同人, 71-77 (2011).

### 発表者紹介

氏名 上松 亮平 (うえまつ りょうへい)  
所属 東北大学多元物質科学研究所  
東北大学大学院理学研究科化学専攻  
学年 D1  
研究室 生命機能制御物質化学研究分野

