

誘起反応性クロスリンク核酸の開発と四本鎖 *i*-motif DNA の安定化 Development of the Inducible Cross-linking Nucleosides and Stabilization of Four-stranded *i*-motif DNA

菊田健司¹、朴海順¹、John Brazier²、鬼塚和光³、永次史³、谷口陽祐¹、佐々木茂貴¹
(¹九大院薬、²Reading School of Pharmacy, University of Reading、³東北大多元研)

ヒトゲノム領域やガン遺伝子のプロモーター領域等にあるシトシン豊富な配列では、*i*-motif と呼ばれる四本鎖の形成が示唆されているが、その細胞内形成や生体機能は未解明である。従って、*i*-motif に対する抗体や特異的結合分子は機能解明の有用なツールになると期待されるが、この構造が中性条件では不安定であることが開発の障害になっていた。*i*-motif 構造は、シトシンとシトシンが 3 位窒素プロトン化を介して塩基対をつくり、それらが互い違いに重なり形成されるため、その形成には酸性条件が必要となっている。本研究では *i*-motif 構造に化学架橋 (クロスリンク) を形成させることで、*i*-motif の安定化を検討した。これまでに当研究室では、標的核酸との二本鎖形成を引き金に化学架橋を形成するクロスリンク核酸、T-vinyl を開発し、標的塩基選択的な反応に成功している¹⁾。その後、我々は T-vinyl 前駆体、Py 体の反応性が酸性条件で誘起されることを見出した。その応用研究として、Py 体を *i*-motif 形成配列に導入し、酸性条件での *i*-motif 形成と同時に、鎖内クロスリンクを形成することを考えた (Fig. 1)。Py 体を含む DNA プロブの鎖内クロスリンク反応を検討したところ、Py 体が標的アデニンと反応し、クロスリンク *i*-motif の合成に成功した。クロスリンク *i*-motif の水溶液の pH を酸性から中性へと変化させながら、CD スペクトルを測定したところ、天然型 *i*-motif に比べ、より中性付近の pH で *i*-motif の形成が示された (Fig. 2)。また、熱力学的解析を行い、*i*-motif の熱的安定性が鎖内クロスリンクによって向上したこと、さらに、その要因がエントロピー変化の減少であることを見出した²⁾。以上の結果から、我々は Py 体を用いた鎖内クロスリンクの形成によって、pH 及び温度変化に対する *i*-motif の安定性の向上に成功したので、その詳細を報告する。

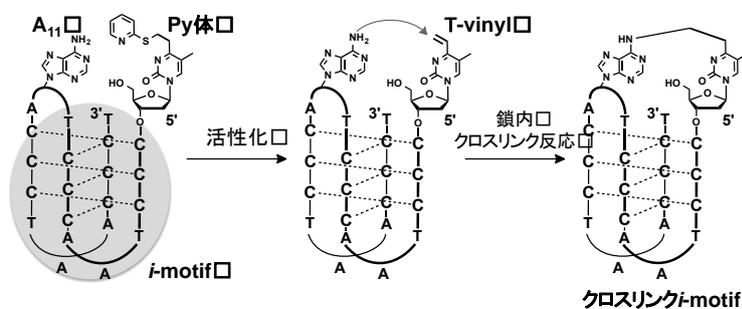


Fig.1. クロスリンク *i*-motif の合成

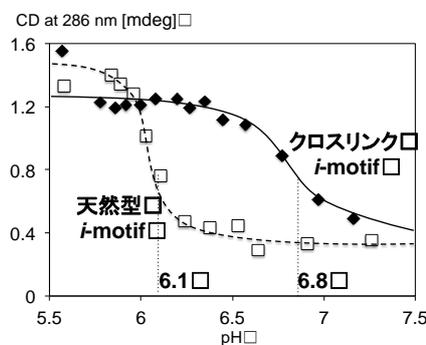


Fig 2. 天然型及びクロスリンク *i*-motif の 286 nm の楕円率の pH 依存性

<参考文献>

- 1) Nishimoto, N.; Jitsuzaki, D.; Onizuka, K.; Taniguchi, Y.; Nagatsugi, F.; Sasaki, S. *Nucleic Acids Research*, **2013**, *41*, 6774-6781.
- 2) Kikuta, K.; Piao, H.; Brazier, J.; Taniguchi, Y.; Onizuka, K.; Nagatsugi, F.; Sasaki, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, *25*, 3307-3310.

発表者紹介

氏名 菊田 健司 (きくた けんじ)
所属 九州大学大学院薬学府 創薬科学専攻

学年 博士後期課程 1 年
研究室 生物有機合成化学分野

