

研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名:ゲノム化学に基づくインテリジェント分子の創製

2. 研究代表者:齋藤 烈 (日本大学 工学部 教授)

3. 研究内容及び成果

本研究はこれまでの研究成果を基に、最新の分子化学と分子生物学的な手法を集結して、ゲノム科学やバイオ産業に役立つインテリジェント分子を開発することを目的としている。具体的には、1)塩基識別型蛍光性インテリジェント核酸塩基の分子設計と画期的な SNP 検出手法の開発、2)配列特異的 DNA アルキル化分子の設計と抗がん剤への応用、3)テロメアをターゲットするインテリジェント分子のデザイン、4)電気化学的な DNA 変異検出法の開発、5)機能性リポヌクレオチドペプチドを用いるバイオセンサーの開発等であり、いずれの課題においても、研究のスタンスとして学術的のみならず実用的にも有用であることを目指した。

以下、成果の概要をまとめる。

1)塩基識別型蛍光性インテリジェント核酸塩基の設計と画期的な SNP 検出法の開発及びメチル化 DNA の検出法の開発(齋藤、岡本グループ)

近年の遺伝子解析の標的が配列全体からヌクレオチド単位に変化しつつあることを考慮し、研究のターゲットとして一塩基多型を解析する実用的蛍光性核酸塩基を開発した。その代表的な例が塩基識別型蛍光性核酸塩基(BDF 塩基)であり、これらは数多くの遺伝子配列に含まれる一塩基多型の解析に威力を発揮した。BDF 塩基を含むプローブを標的配列にハイブリダイゼーションさせるだけで特定の位置にある塩基の種類を判別することが出来る。また、異なる蛍光色素を含有する BDF セット(各塩基に対応)を数パターン作成し、ターゲットの配列や検出手法、検出目的に合わせてそれらを実用化する道筋を作った。これらの研究成果は、蛍光発光挙動の変化を利用した DNA 高次構造の解析法や、メチル化 DNA の新しい検出法へと展開した。特にメチル化 DNA の効率的検出は、現在エピジェネティクス研究で極めて重要視されている技術であり、今後のメチル化タイピング技術の発展の礎になる化学的手法として大いに期待出来る。

2)配列特異的 DNA アルキル化分子の設計と抗がん剤への応用(杉山グループ)

DNA と共有結合を形成するアルキル化剤に、優れた塩基配列認識能を付与することで、DNA の塩基配列の 1 塩基対の差異を正確に標的に出来る薬剤の開発を目指した。有機合成化学手法を駆使して、DNA 塩基配列認識ユニットを有するピロール(Py)-イミダゾール(Im)ポリアミドに、抗生物質由来の DNA アルキル化能を付与することに成功した。その結果、認識配列を自在に設計することが可能な配列特異的アルキル化剤を実現した。さらにこれらを用いて特定遺伝子の発現制御に成功した。本研究では、この反応性 Py-Im ポリアミドの DNA 塩基配列特異的アルキル化能を活用したがん細胞特異的な抗がん剤の開発

を目指した。この方法論の有効性を実証するために、反応性 Py-Im ポリアミドの固相合成法の確立と並行し、ヒト培養細胞の実験系を用い検討したところ、これらの化合物が示す選択性の高い抗がん活性や、反応部位における遺伝子発現への影響等が分かった。

3) テロメアをターゲットとするインテリジェント分子のデザイン(杉山グループ)

2)に示した Py-Im ポリアミドの特異的な塩基配列認識能を活用したところ、二本鎖ヒトテロメア配列に対する高効率なアルキル化剤の開発に成功した。この反応性 Py-Im ポリアミドはそれぞれの鎖に対し選択的認識能、アルキル化能を持ち、ヒト培養がん細胞に対して増殖阻害能を認めた。またヒトテロメア配列を含む 22 量体(5'-AGGG(TTAGGG)3-3')の構造について検討したところ、Syn コンフォメーションの安定化する 4 本鎖構造が Mixed-Chair 構造であることを明らかにした。この構造をもとにしてキラルヘリセンが 4 本鎖 DNA に特異的に結合することを見出し、この化合物が強いテロメラーゼ阻害活性を示すことを発見した。

4) DNA 変異の電気化学検出法及びバイオセンサーの構築(山名グループ)

インターカレート性のレドックスレポーターを部位特異的に導入した新規人工核酸を用いて DNA π スタックを介した電子移動反応を追跡し、迅速かつ簡便な遺伝子変異の電気化学検出手法を開拓した。一方、核酸の微細構造変化に鋭敏に応答する蛍光性レポーター分子を用いてアプタマー(Aptamer)を部位特異的に修飾し、目的とするリガンドを選択的かつ高感度に検出することが可能なバイオセンサーの創製を行った。

5) 機能性リボヌクレオチドペプチドを用いるバイオセンサーの開発(森井グループ)

RNA サブユニットを *in vitro* selection により機能化し得られた ATP 結合性リボヌクレオチドペプチド(RNP)リセプターのペプチドサブユニットを、さらにファージディスプレイ法を用いたライブラリーによって機能化し、RNP リセプターの結合能・識別能を向上させた。この結果、アデノシン三リン酸(ATP)とデオキシアデノシン三リン酸(dATP)の識別が可能な RNP リセプターが得られた。次にこの RNP リセプターのペプチドサブユニットを蛍光分子で修飾することにより、幅広い濃度応答領域と検出波長を持つ ATP センサーを作成した。この結果、チロシンとリン酸化チロシンを識別する蛍光性バイオセンサーの開発に成功した。

以上のようにいずれの研究課題においても、学術的に優れた成果の創出に加え、特許出願も十分に行っており、実用的な面では、DNA チップの開発や電気化学的 DNA 検出法で企業との共同研究が進んでいる。また、本研究に関連して、ベンチャー企業ジェンティア・バイオシステムズ(株)が立ち上がったことも特筆出来る。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

精密有機化学に基づくゲノム化学の進展を目指し、幾つかの価値ある機能分子システムを開発した。特に配列特異的アルキル化剤(抗がん剤)の提案、ミスマッチ認識分子の開発、及び SNP

の検出、DNA ナノワイヤーの開発等、国内外で最高レベルの成果を上げた。これは、齋藤烈教授らのグループが10年間にJACS(Journal of the American Chemical Society)に70報もの論文を掲載したこと、多くの学会で招待講演を行っていることから論を待たない。得られた成果の特許化や企業化を行っていることから明らかなように、技術的なインパクトも高い。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

これまで我が国のゲノム化学の分野は米国に比べかなり遅れていたが、研究代表者らは、分子認識の問題に正面から取り組み、遂に世界をリードするような成果を上げるまでに至った。これらの成果は「ケミカルバイオロジー」という新しい学問領域が立ち上がるきっかけを作った。実用面でもベンチャー企業が立ち上がり、随所で共同研究・企業化研究が進んでいる。このように研究代表者らの研究は、新しい領域を切り開いたという意味で高く評価される。

4-3. その他特記事項(受賞歴等)

期間中の主な表彰実績を示す。

齋藤烈	日本化学会賞	平成14年3月
	全米科学振興連盟(AAAS)フェロー	平成15年3月
岡本晃充	日本化学会バイオテク部会講演賞	平成16年3月
	日本光医学・生物学会奨励賞	平成16年10月
杉山弘	日本化学会学術賞	平成17年3月
中谷和彦	日本IBM科学賞	平成18年11月
岡本晃充	日本化学会進歩賞	平成19年3月

本研究チームのスタッフや学生が教授等に昇任し、数多くの国内の賞を受賞していることから、この研究分野が飛躍的に発展したことが示されるとともに、究代表者の学問分野において果たした役割は非常に大きいことがうかがえる。