

京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 教授

齋藤 烈

「生体機能分子の設計と精密分子認識に基づく反応制御」

1. 研究実施の概要

我々は、遺伝子 DNA のかかわる分子認識を有機化学のレベルで精密にとらえ、その原理を究明し、これに基づき極限機能を発揮できる画期的な機能分子システムを設計すべく、本研究をスタートした。その真っ最中の 2000 年に、ヒトゲノム解読の歴史的な発表があり、世界はゲノム時代へと突入した。今や、ポストゲノムを迎え、化学の立場からゲノムを追求する、いわゆるゲノム化学 が米国の大学、企業、ベンチャーを中心に熾烈な競争を繰り広げている。一方、我が国ではというと、少なくとも大学におけるゲノム化学の本格的な研究はほとんど行われていないというのが現状である。

我々は、この 5 年間の研究で、精密有機化学に基づくゲノム化学関連の研究で重要ないくつかの研究成果を挙げる事に成功した。例えば、1) 任意の塩基配列をアルキル化する次世代ドラッグのデザイン、2) ミスマッチ認識分子の開発と SNP (遺伝子の一塩基多型) の検出、3) 光を用いる遺伝子操作法の開発、4) 特異な構造と機能をもつ人工 DNA の合成と応用、5) GG スタック則の発見と DNA の HOMO マッピングなど、DNA の持つ本質的な化学的性質の解明、6) DNA を媒体とする電子移動とその制御、7) DNA ナノワイヤーの開発、8) 抗ガン剤による DNA 損傷のアンプリファイアーによる増強効果、9) DNA に関する量子化学的研究、などである。これらの研究は、いずれも学術的にも実用的にも重要であり、今後の展開が大いに期待されるものである。ゲノムサイエンスの発展と将来の巨大なゲノム産業創出のためには、何と言っても、“物の作り出せる化学” の立場からの研究が不可欠で、我々は少なくとも日本においては、我々がこの分野の研究の先鞭をつけたと自負している。本研究を通じて、化学のセンスを持ってゲノム科学の研究に挑戦することがいかに重要性であるかということを、国内外に示せたと考えている。

2. 研究構想

本研究は京大工学研究科齋藤烈をリーダーとして、齋藤グループと東京医科歯科大杉山グループが中心となって、上記の研究課題を押し進めた。

それまで、我々は天然抗ガン剤、例えば、Bleomycin や Neocarzinostatin、DNA アルキル化剤である Duocarmycin A 等と DNA との分子認識を精密有機化学のレベルで研究してきたので、これら天然物の DNA 塩基配列の分子認識の原理を明らかにし、これに基づき新しい DNA 認識分子をまずデザインし、これに反応部位を付け、塩基配列特異的な DNA アルキル化剤を創製することから、この研究をスタートした。同時に、さまざまな機能を持つ人口 DNA やオリゴヌクレオチドを作り、遺伝子工学のツールとして応用する研究を開始した。通常の精密有機合成化学の手法で、新しい骨格の核酸塩基のモノマーユニットを合成すれば、後はアミダイトにすることにより自動合成機で DNA を合成する技術と装置が我々の研究室にそなわっていたので、問題はどのような分子を設計し、合成した人口 DNA を一体何に使うかということが、最も重要な研究のポイントである。

このような研究のためには、最先端の有機合成化学はもとより、分子モデリング、力場計算、NMR による DNA 構造の解析、分子生物学的研究手法等に習熟することが不可欠である事はいうまでもない。

これまで DNA をターゲットとするさまざまな機能分子を開発してきたが、最終的には細胞レベルの研究が不可欠で、医学的応用研究、特に抗ガン剤の増強効果等については、三重大医学部川西グループに協力をあおいだ。

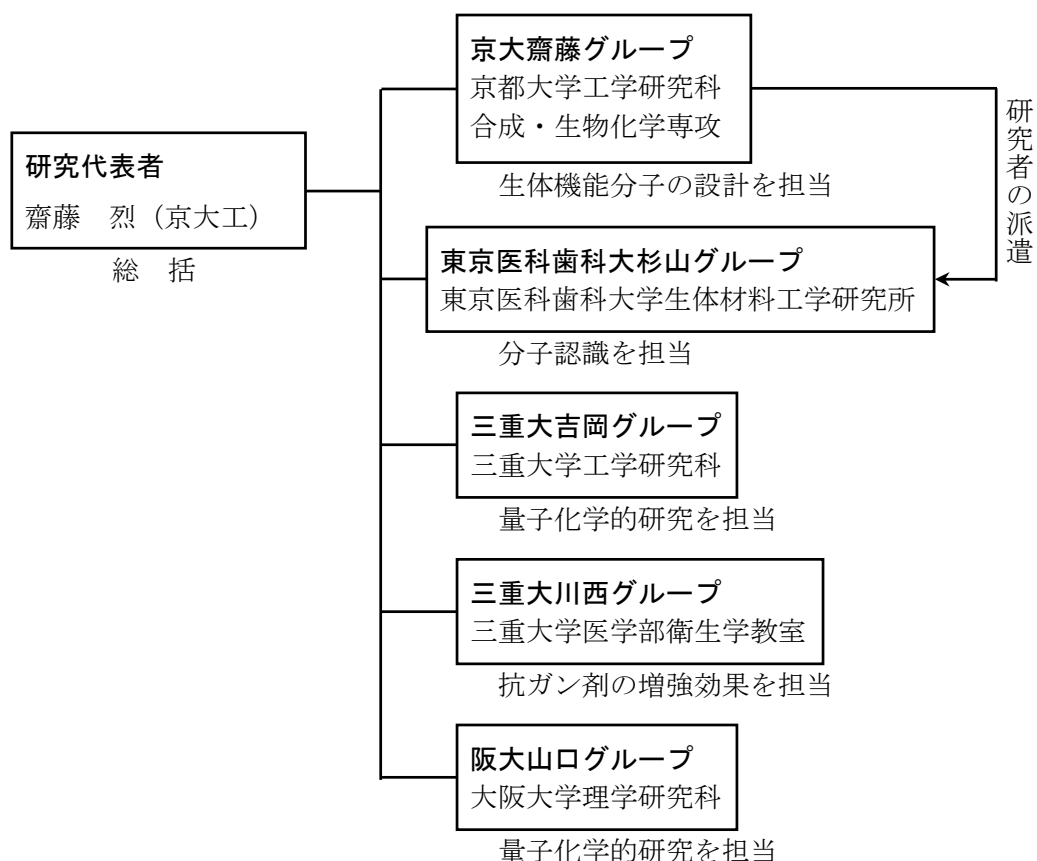
我々は、さまざまな形を持つ DNA を一つの分子としてとらえ、さまざまな形や配列の DNA の物理化学的ならびに電子化学的性質を分子軌道法により精密に計算し、その計算結果とさまざまな配列の DNA オリゴマーの実験結果との対比を行い、DNA を一つの分子として取り新しい方法論を開発しようと考えた。幸い、さまざまな配列の DNA オリゴマーは容易に合成できるし、我々は DNA の化学反応の解析技術では世界でトップの技術を持っているので、問題は DNA の反応や相互作用にはどのような立体電子的な因子が重要であるかを嗅ぎ取る化学者としてのセンスが要求される。量子化学的立場からの研究は三重大工学部吉岡グループ並びに阪大基礎工学部の山口グループに協力をあおいだ。

この一連の研究で、DNA 塩基同士の重なり、特に、最も酸化電位の低いグアニン(G)塩基が二重らせん構造のなかで互いにスタックする事が、いかに DNA の電子化学的な性質に大きな影響を与えるかを、定量的に表せる方法論を開発しようと考えた。この研究の結果、DNA に重要な G-G スタック則を発見することができた。又、DNA の反応性の指標となる HOMO を実験的に mapping する事ができないだろうかと考え、さまざまな試みを行った。さまざまな配列の DNA オリゴマーの HOMO を計算するとともに、実験的に DNA の HOMO を mapping する方法を開発し、長い DNA 塩基配列のどの部分に HOMO がより強く分布しているかを実験的にゲル電気泳動で調べるという全く新しい画期的な方法を創成しようと考えた。我々は DNA の光化学反応に関しては、20 年にも及ぶ経験と実績を持っていた。光を 1 つの “sizeless な reagent” としてとらえれば、生体系で DNA へ何らかの反応や変化を引き起こすための駆動力として、何も加える必要がない光は最適な試薬である。我々は、本研究以前に、DNA を配列特異的に光切断する分子を多数開発してきた。これらは、さまざまな DNA 操作に使えるばかりでなく、ガンの光治療や光アンチセンスドラッグとしての可能性を秘めている。本研究では、さまざまな光を用いる DNA の新しい操作法を開発してきた。特筆すべきは、光を用いて可逆的に DNA を連結する方法を考案し、酵素では行い得ない画期的な遺伝子操作法を開発した。我々が開発したこの方法は、将来のレーザーバイオテクノロジーの基礎となると考えている。同時に、DNA 二重らせんを経る光電子移動の研究を行い、DNA 内のホール移動はグアニンカチオンラジカルをへる多段階ホッピング機構であることを明らかにした。更に、DNA 内を通るホール移動を制御するホールトラップをデザイン合成した。DNA を経る電子移動を DNA 結合蛋白を用いて制御することにも挑戦し、ある種の制限酵素が DNA 内のホール移動を制御できることが分かった。

この研究の後半では、DNA をナノ材料として利用する研究を展開した。これは、バイオナノテクノロジーで DNA は極めて重要であり、かつ応用範囲が広いからである。DNA チップに代表されるバイオナノチップの将来はきわめて大きい、問題はバイオチップの分野に、いかに画期的な化学的な新しいコンセプトを導入できるかが 1 つのポイントになる。

我々が、この CREST 研究で提示した遺伝子 SNPs 検出用チップの開発や新規な DNA ナノワイヤーの開発は、この 1 つの protocol に過ぎず、この新しい研究分野は、優れた化学的センスを巧みに応用すれば、いくらでも革命的な発明発見が出来るという、きわめて魅力ある分野である。DNA コンピュータや DNA 超伝導体などがその一つの例であろう。異なる分子を論理的に並べ、重ねあわせるには、DNA の二重らせんは最適で、天然の DNA 塩基以外の分子を DNA のらせん構造に自在に入れる技術がほぼできつつある現状で、一体将来どのような物性の人口 DNA が作られるかは、全く予想すらできない楽しい研究分野なのである。

3. 研究実施体制



4. シンポジウム・ワークショップ等

なし

5. 主な研究成果

(1) 原著論文等

1. Evidence for Intastrand C2' Hydrogen Abstraction in Photoirradiation of 5-Halouracil-Containing Oligonucleotides by Using Stereospecifically C2'-Deuterated Deoxyadenosine. H. Sugiyama, K. Fujimoto, I. Saito, E. Kawashima, T. Sekine and Y. Ishido, *Tetrahedron Lett.*, 37, 1805-1808 (1996).
2. 6-Endo-and 5-Exo-digonal Cyclizations of *o*-Hydroxyphenyl Ethynyl Ketones: A Key Step for Highly Selective Bezopyranone Formation. K. Nakatani, A. Okamoto and I. Saito, *Tetrahedron*, 52, 9427-9446 (1996).
3. Theoretical Studies of GG-Specific Photocleavage of DNA via Electron Transfer: Significant Lowering of Ionization Potential and 5'-Localization of HOMO of Stacked GG Bases in B-Form DNA. H. Sugiyama and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 7063-7-68 (1996).
4. Remarkably Stable Parallel Stranded Oligonucleotides Containing 5-Methylisocytosine and Isoguanine. H. Sugiyama, S. Ikeda and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 9994-9995 (1996).
5. Design of DNA-Cleaving Agents. I. Saito and K. Nakatani, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 69, 3007-3019 (1996).
6. Ab Initio MO Studies of Singlet Oxygen Reactions. Ab Initio Molecular Orbital Studies of Singlet Oxygen Reactions of Olefins, Enol Ethers and Enamines. Y. Yoshioka, S. Yamada, T. Kawakami, M. Nishino, K. Yamaguchi and I. Saito, *Bull. Chem.Soc.Jpn.* 69, 2683-2699 (1996).
7. Synthesis, Structure and Thermodynamic Properties of 8-Methylguanine-Containing Oligonucleotides: Z-DNA under Physiological Salt Conditions. H. Sugiyama, K. Kawai, A. Matsunaga, K. Fujimoto, I. Saito, H. Robinson and A.H.-J. Wang, *Nucleic Acids Res.*, 24, 1272-1278 (1996).
8. Distamycin A Modulates the Sequence Specificity of DNA Alkylation by Duocarmycin A. H. Sugiyama, C. Lian, M. Isomura, I. Saito, and A. H.-J. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 14405-14410 (1996).
9. New Synthetic Method of 5-Formyluracil-Containing Oligonucleotides and Their Melting Behavior. H. Sugiyama, S. Matsuda, K. Kino, Qiu-Mei Zhang, S. Yonei and I. Saito, *Tetrahedron Lett.* 37, 9067-9070 (1996).
10. Catalytic Activities of Hammerhead Ribozymes with a Triterpenoid Linker instead of Stem/Loop II. H. Sugiyama, K. Hatano, I. Saito, Sergei Amontov, K. Taira, *FEBS Letters*, 392, 215-219 (1996).
11. Sequence-and Conformation-Dependent Photoinduced-Electron-Transfer from DNA. T. Nakamura, H. Sugiyama, K. Fujisawa, C. Dohno, K. Nakatani and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*, No.35, 89-90 (1996).
12. Formation of Parallel Stranded Duplex Containing 5-Methylisocytosine and Isoguanine. S. Ikeda, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*, No.35, 91-92 (1996).
13. Photochemistry of 5-Bromouracil-Containing DNA. K. Fujimoto, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*, No.35, 19-20 (1996).
14. Effects of Methylation on B-to Z-DNA Transition. K. Kawai, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*, No.35, 87-88 (1996).

15. Truncated Analogs of Kapurimycin A₃ and Their DNA Alkylation Mechanism. K. Nakatani, A. Okamoto, S. Okuda and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*, No.35, 83-84 (1996).
16. Novel Synthesis of Bifurans via Furan-Forming Photocyclization of α -Diketones Conjugated with Ene-Yne, K. Nakatani, K. Tanabe, and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 38, 1207-1210 (1997).
17. Design of Photochemical DNA-Cleaving Molecules via Electron Transfer. I. Saito, M. Takayama, H. Sugiyama and T. Nakamura, *Photochem. Photobiol. A. Chemistry*, 106, 141-144 (1997).
18. CASSCF, MP2, and CASMP2 Studies on Addition Reaction of Singlet Molecular Oxygen to Ethylene Molecule, Y. Yoshioka, T. Tsunesada, K. Yamaguchi and I. Saito, *Int. Journal of Quantum Chem.*, 65, 787-801 (1997).
19. Theoretical Study on Rotational Barriers of 1,3-Dipoles and Mechanisms of 1,3-Dipolar Reactions. Y. Yoshioka, D. Yamaki, S. Kiribayashi, T. Tsunesada, M. Nishino, K. Yamaguchi, K. Mizuno, and I. Saito, *Electronic J. Theoretical. Chem.*, 2, 10841-10859 (1997).
20. Theoretical Study on Electronic Structures of Oxygenated Dipoles and Mechanisms of Ozonolysis Reactions. Y. Yoshioka, D. Yamaki, S. Kubo, M. Nishino, K. Yamaguchi, K. Mizuno and I. Saito, *Electron. J. Theor. Chem.*, 2, 10889-1106 (1997).
21. Highly Efficient Photochemical Generation of o-Quinone Methide from Manich Bases of Phenol Derivatives, K. Nakatani, N. Higashida, and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 38, 5005-5008 (1997).
22. Dibenzoyldiazomethane-Acridine Conjugate: A Novel DNA Photofootprinting Agent, K. Nakatani, J. Shirai, S. Sando and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 38, 6047-6050 (1997).
23. Guanine Specific DNA Cleavage by Photoirradiation of Dibenzoyldiazomethane-Oligonucleotide Conjugates. K. Nakatani, J. Shirai, S. Sando and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 7626-7635 (1997).
24. Synthesis of ABC Ring Analog of Karurimycin A₃ as an Effective DNA Alkylating Agent. K. Nakatani, A. Okamoto and I. Saito, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 36, 2794-2797 (1997).
25. Replication of DNA Templates containing 5-Formyluracil, a Major Oxidative Lesion of Thymine in DNA. Q-M. Zhang, H. Sugiyama, I. Miyabe, S. Matsuda, I. Saito and S. Yonei, *Nucleic Acids Res.* 25, 3969-3973 (1997).
26. Studies on the Mechanism of DNA Sequence Selective Alkylation by Kapurimycin A₃ Analogs. A. Okamoto, K. Nakatani and I. Saito *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 27-28 (1997).
27. Analysis of Guanine Oxidation Product via Electron Transfer in 5'd(TTGGTA)-3'. K. Kino, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 39-40 (1997).
28. Structure of DNA containing Aristeromycin Analog. T. Fujiwara, H. Sugiyama, and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 51-52 (1997).
29. Photoinduced Cleavage of Single and Double Stranded DNA at Single Guanine Proximal to Target Sequence by Dibenzoyldiazomethane-ODN Conjugate. K. Nakatani, S. Sando, and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 85-86 (1997).
30. GG specific Cleavage via Hole Hopping through Double-Stranded DNA. T. Nakamura, C. Dohno, K. Nakatani and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 87-88 (1997).
31. Mechanistic Investigation of Photoreduction of 5-Bromouracil-Containing Oligomers. K. Fujimoto, S. Ishihara and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 89-90 (1997).

32. Cooperative Alkylation by Duocarmycin A-Distamycin A Heterodimer. Y. Ozeki, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 91-92 (1997).
33. Photoreaction of 5-Halouracil-Containing Z-form DNA. K. Kawai, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.37, 93-94 (1997).
34. Preferential C1' Hydrogen Abstraction by a Uracilyl Radical in a DNA-RNA Hybrid. H. Sugiyama, K. Fujimoto and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 38, 8057-8060 (1997).
35. Photoreaction of 5-Halouracil-Containing Z-Form DNA. K. Kawai, H. Sugiyama and I. Saito, *Photomedicine and Photobiology*, 19, 95-97 (1997).
36. D Amplifies Site-Specific DNA Cleavage Induced by Neocarzinostatin. Y. Hiraku and S. Kawanishi, *Actinomycin Biochem. Biophys. Res. Commun.* 239, 134-138 (1997)
37. Photoinduced Hydroxylation of Deoxyguanosine in DNA by Pterins: Sequence Specificity and Mechanism. K. Ito and S. Kawanishi, *Biochemistry* 36, 1774-1781 (1997)
38. Sequence Dependent Photoreduction of 5-Bromouracil-Containing Oligonucleotides via Electron Transfer. K. Fujimoto, H. Sugiyama and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 39, 2137-2140 (1998).
39. *p*-Cyano Substituted Benzophenone as an Excellent Photophore for One-Electron Oxidation of DNA. K. Nakatani, C. Dohno, T. Nakamura and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 39, 2779-2782 (1998)
40. *p*-Cyano Substituted 5-Benzoyldeoxyuridine as a Novel Electron-Accepting Nucleobase for One-Electron Oxidation of DNA. K. Nakatani, K. Fujisawa, C. Dohno, T. Nakamura and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 39, 5995-5998 (1998).
41. Stabilization of Hoogsteen Base Pairing By Introduction of NH₂ Group at the C8 Position of Adenine. K. Kawai, I. Saito and H. Sugiyama, *Tetrahedron Lett.*, 39, 5221-5224 (1998).
42. Product Analysis of GG-Specific Photooxidation of DNA via Electron Transfer. 2-Aminoimidazolone as a Major Guanine Oxidation Product. K. Kino, I. Saito and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 7373-7374 (1998).
43. Facile Synthesis of Puromycin-Tethered Oligonucleotides at the 3'-End. S. Ikeda, I. Saito and H. Sugiyama, *Tetrahedron Lett.*, 39, 5975-5978 (1998).
44. Highly Selective DNA Alkylation at 5' Side of 5'GG3' Sequences by an Aglycon Model of Pluramycin Antibiotics through Preferential Intercalation into GG Step. K. Nakatani, A. Okamoto, T. Matsuno and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 11219-11225 (1998).
45. Mapping of the Hot Spots for DNA Damage by One-Electron Oxidation: Efficacy of GG Doublets and GGG Triplets as a Trap in Long-Range Hole Migration. I. Saito, T. Nakamura, K. Nakatani, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12686-12687 (1998).
46. Structural Studies of a Parallel-Stranded DNA Duplex Incorporating Isoguanine: Cytosine and Isocytosine: Guanine Base Pairs by NMR. X.-L. Yang, H. Sugiyama, S. Ikeda, I. Saito and A.H.-J. Wang, *Biophys. J.*, 75, 1163-1171 (1998).
47. An *Ab Initio* Molecular Orbital Study of a Binuclear Dioxygen Complex as a Model of the the Binuclear Active Site in Cytochrome c Oxidase. Y. Yoshioka, S. Kubo, K. Yamaguchi, and I. Saito, *Chem. Phys. Lett.*, 294, 459-467 (1998).
48. Possibility of GC-CG Transversion Induced by Guanine Oxidation Product, Imidazolone. K. Kino, I. Saito and H. Sugiyama, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.39, 51-52 (1998).

49. Analysis of Photoinduced Electron-transfer Reaction through the Oligonucleotides Containing Cyanobezophenone-substituted 2'-Deoxyuridine. C. Dohno, K. Nakatani, T. Nakamura, K. Fujisawa and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.39, 41-42 (1998).
50. Conformation-dependent Photochemistry of 5-Halouracil-containing DNA: Specific Ribose 2'-Hydroxylation in Z-Form DNA. K. Kawai, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.39, 99-100 (1998).
51. Site-Specific Hydroxylation at Polyguanosine in Double-Stranded DNA by UVA Radiation with Nalidixic Acid. Y. Hiraku, H. Ito and S. Kawanishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 251, 466-470 (1998)
52. Role of Ultraviolet A-Induced Oxidative DNA Damage in Apoptosis via Loss of Mitochondrial Membrane Potential and Caspase-3 Activation. S. Tada-Oikawa, S. Oikawa, and S. Kawanishi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 247, 693-696 (1998)
53. Sequence-Specific DNA Alkylation by Hybrid Molecules between Segment A of Duocarmycin A and Pyrrole-Imidazole Diamide. Z. Tao, T. Fujiwara, I. Saito and H. Sugiyama, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 38, 650-652 (1999).
54. Site-Specific DNA Methylation and Apoptosis Induced by Diabetogenic Streptozotocin. M. Murata, A. Takahashi, I. Saito and S. Kawanishi, *Biochem. Pharm.*, 57, 881-887 (1999).
55. Theoretical Studies of Decomposition Reactions of Dioxetane, Dioxetanone and Related Species. CT Induced Luminescence (CTIL) Mechanism Revisited. Y. Takano, T. Tsunesada, H. Isobe, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi, and I. Saito, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 72, 213-225 (1999)
56. Conformation Dependent Photochemistry of 5-Halouracil-Containing DNA: Stereospecific 2' α -Hydroxylation of Deoxyribose. K. Kawai, I. Saito, and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 1391-1392 (1999).
57. Highly Efficient DNA Interstrand Cross-Linking Induced by Antitumor Antibiotic, Carzinophilin. T. Fujiwara, I. Saito, and H. Sugiyama, *Tetrahedron Lett.*, 40, 315-318 (1999).
58. Intrastrand 2' β Hydrogen Abstraction of 5'-Adjacent Deoxyguanosine by Deoxyuridine-5-yl in Z-Form DNA. K. Kawai, I. Saito, E. Kawashima, Y. Ishido and H. Sugiyama, *Tetrahedron Lett.*, 40, 2589-2592 (1999).
59. Replication *in vitro* and Cleavage by Restriction Endonuclease of 5-Formyluracil-and 5-Hydroxymethyluracil-containing Oligonucleotides. Q.-M. Zhang, H. Sugiyama, I. Miyabe, S. Matsuda, K. Kino, I. Saito and S. Yonei, *Int. J. Radiat. Biol.*, 75, 59-65 (1999).
60. Mechanistic Studies on Photo-induced Cross-Linking and Specific Cleavage at Guanine by Dibenzoyldiazomethane-Oligodeoxynucleotide Conjugate. K. Nakatani, S. Sando, and I. Saito, *Bioorganic Chem.*, 27, 227-237 (1999).
61. Rational Design of Sequence-Specific DNA Alkylating Agents Based on Duocarmycin A and Pyrrole-Imidazole Hairpin Polyamides. Zhi-Fu Tao, T. Fujiwara, I. Saito and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 4961-4967 (1999).
62. Tandem Cyclizations Involving Carbene as an Intermediate. Photochemical Reactions of Substituted 1,2-Diketones Conjugated with Ene-Yne. K. Nakatani, K. Adachi, K. Tanabe and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 8221-8228 (1999).
63. Modulation of Sequence Specificity of Duocarmycin-Dependent DNA Alkylation by Pyrrole-Imidazole Triamide. T. Fujiwara, Zhi-Fu Tao, Y. Ozaki, I. Saito, A.H.-J. Wang, M. Lee and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 7706-7707 (1999).

64. Experimental and Thoretical Studies on the Selectivity of GGG Triplets toward One-Electron Oxidation in B-Form DNA. Y. Yoshioka, Y. Kitagawa, K. Yamaguchi, T. Nakamura and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 8712-8719 (1999).
65. Photochemical Halogen-Exchange Reaction of 5-Iodouracil-Containing Oligonucleotides. K. Kawai, I. Saito, and H. Sugiyama, *Tetrahedron. Lett.*, 40, 5721-5724 (1999).
66. Water-Soluble 2-Amino-1, 8-naphthyridine as a Novel DNA Binding Photosensitizer for One-Electron Oxidation of DNA. K. Nakatani, S. Sando, K. Yoshida and I. Saito, *Tetrahedron. Lett.*, 40, 6029-6032 (1999).
67. Synthesis of DNA Oligomers Containing Modified Uracil Possessing Electron-Accepting Benzophenone Chromophore, K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito *J. Org. Chem.*, 64, 6901-6904 (1999).
68. Reversible Photoligation of DNA via 5-Vinyluridine. K. Fujimoto, S. Matsuda and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.42, 39-40 (1999).
69. Cleavage of Parallel-Stranded DNA Duplex by Peplomycin Metal Complexes. S. Ikeda, I. Saito and H. Sugiyama, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.42, 41-42 (1999).
70. DNA HOMO as a New Landmark for Nuceic Acid Properties. Ab Initio Calculations and Experimental Mapping. T. Nakamura, K. Nakatani and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.42, 119-120 (1999).
71. Synthesis of Pyrrole-Imidazole-Duocarmycin Polyamide and Its Sequence Selective DNA Alkylation. T. Fujiwara, Zhi-Fu. Tao, I. Saito anf H. Sugiyama, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.42, 249-250 (1999).
72. Amplification of Bleomycin-Induced DNA Cleavage by Pyrrole Triamide. Y. Hiraku, S. Oikawa, S. Kawanishi, H. Sugiyama and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.42, 253-254 (1999).
73. 8-Methoxydeoxyguanine as an Effective Precursor of 2-Aminoimidazolone, as a Major Guanine Oxidation Product in One-Electron Oxidation of DNA. H. Ikeda and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 10836-10837 (1999).
74. Chemistry of Sequence Dependent Remote Guanine Oxidation: Photoreaction of Duplex DNA containing Cyanobezophenone Substituted Uridine. K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 10854-10855 (1999).
75. Specific Alkylation of Guanine Opposite to a Single Nucleoside Bulge: A Chemical Probe for Bulged Structure of DNA, K. Nakatani, A. Okamoto, and I. Saito, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 38, 3378-3380 (1999).
76. Site-Specific Oxidation at GG anf GGG Sequences in Double-Stranded DNA by Bezoyl Peroxide as a Tumor Promoter. S. Kawanishi, S. Oikawa, M. Murata, H. Tsukitome and I. Saito, *Biochemistry*, 38, 16733-16739 (1999).
77. Site-specific DNA damage at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. S. Oikawa and S. Kawanishi, *FEBS Lett.*, 453, 365-368 (1999)
78. Recognition of a Single Guanine Bulge by 2-Acylamino-1, 8-naphthyridine. K. Nakatani, S. Sando and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 2172-2177 (2000).
79. Highly Cooperative DNA Dialkylation by the Homodimer of Imidazole-Pyrrolle Diamide-CPI Conjugate. Z-F. Tao, I. Saito and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 1602-1608 (2000).

80. Mapping of Highest Occupied Molecular Orbitals of Duplex DNA by Cobalt-Mediated Guanine Oxidation. I. Saito, T. Nakamura and K. Nakatani, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 3001-3006 (2000).
81. Modulation of DNA-Mediated Hole Transfer Efficiency by Changing Superexchange Electronic Interaction. K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 5893-5894 (2000).
82. Template-Directed Photoreversible Ligation of Deoxyoligonucleotides via 5-Vinyldeoxyuridine. K. Fujimoto, S. Matsuda, N. Takahashi and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 5646-5647 (2000).
83. Site Selective Formation of Thymine Glycol-Containing Oligodeoxynucleotides by Oxidation with Osmium Tetroxide and Bipyridine Tethered Oligonucleotide. K. Nakatani, S. Hagihara, S. Sando, H. Miyazaki, K. Tanabe and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 6309-6310 (2000).
84. Template-Directed Reversible Photocircularization of DNA via 5-Vinyldeoxycytidine. K. Fujimoto, S. Matsuda, N. Ogawa, M. Hayashi, and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 6451- 6454 (2000).
85. Direct Strand Cleavage via Furanyladenine Formation in Anerobic Photoirradiation of 5-Bromouracil-containing Oligonucleotides. K. Fujimoto, Y. Ikeda and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 6455-6459 (2000).
86. Reversible DNA Photocircularization on Triple Helix; Effect of Vinyl Substituent on Base Stacking. K. Fujimoto, S. Matsuda, M. Hayashi, and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 7879-7880 (2000).
87. Mapping of the Highest Occupied Molecular Orbital of a DNA-RNA Hybrid by Cobalt-Bezoyl Peroxide Oxidation. T. Nakamura and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 7917-7920 (2000).
88. Site-Selective DNA Alkylation of GG Steps by Naphthaldiimide Derivatives Possessing Enantiomeric Epoxide. A. Okamoto, T. Nakamura, K. Yoshida, K. Nakatani and I. Saito, *Organic Lett.*, 2, 3249-3251 (2000).
89. Synthesis and Duplex Stability of Oligonucleotides containing 7-Vinyl-7-deazaguanine as a Strong Electron-Donating Nucleobase. A. Okamoto, T. Taiji, K. Tanaka and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 10035-10039 (2000).
90. Template Directed Photochemical Synthesis of Branched Oligodeoxynucleotides via 5-Carboxyvinyldeoxyuridine. K. Fujimoto, N. Ogawa, M. Hayashi, S. Matsuda and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 9437-9440 (2000).
91. Site Selective Generation of Guanine Radical Cation In Duplex DNA: Modulation of the Direction of Hole Transport. K. Nakatani, C. Dohno and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 41, 10041-10045.
92. Control of Electron Transfer In DNA by Peptide Nucleic Acids (PNA). K. Tanabe, K. Yoshida, C. Dohno, A. Okamoto and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.44, 35-36 (2000).
93. New Method for Scanning Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs); Recognition of Guanine-Guanine Mismatches by Dimeric Naphthyridine. S. Sando, K. Nakatani and I. Saito, *Nucleic Acids Sym. Series*. No.44, 119-120 (2000).
94. Amplification of Peplomycin-mediated DNA Cleavage and Apoptosis by Unfused Aromatic Cations. S. Kawanishi, S. Oikawa, M. Kawanishi, H. Sugiyama, I. Saito, L. Strekowski and W. D. Woson, *Biochemistry*, 39, 13210-13215 (2000).

95. Distinct Mechanisms of Guanine-Specific DNA Photodamage Induced by Acid and Fluoroquinolone Antibacterials, Y. Hiraku and S. Kawanishi, *Arch Biochem Biophys.* 38, 211-218 (2000).
96. Scanning of Guanine-Guanine Mismatches in DNA by Synthetic Ligands. K. Nakatani, S. Sando and I. Saito, *Nature Biotechnology.*, 19, 51-55 (2001).
97. Specific Binding of 2-mino-1, 8-naphthyridine into a Single Guanine Bulge as Evidenced by Photooxidation of GG Doublet. K. Nakatani, S. Sando, K. Yoshida and I. Saito, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, 11, 335-337 (2001).
98. Synthesis and Properties of Peptide Nucleic acids Containing Psoralene Unit. A. Okamoto, K. Tanabe and I. Saito, *Orgnic Lett.*, 3, 925-927 (2001).
99. Selective Intercalation of Charge Neutral Intercalators into GG and CG Steps: Implication of HOMO-LUMO Interaction for Sequence Selective Drug Intercalation into DNA. K. Nakatani, T. Matsuno. K. Adachi, S. Hagihara and I. Saito. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 5695-5702 (2001).
100. Amplification of Bleomycin-induced DNA cleavage at Cytosine Residues 3' to GGG Sequences by Pyrrole Triamide. *Biochemical Pharmacology*, 61, 351-356 (2001).
101. Sequence-Specific DNA Innerstrand Cross-Linking by Imidazole-Pyrrole CPI Conjugate. T. Bndo, H. Iida, I. Saito and H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 5158-5159 (2001).
102. Synthesis and Characterization of Flavin-Tethered Peptide Nucleic Acid. H. Ikeda, K. Yoshida, M. Ozeki and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, 42, 2529-2523 (2001).
103. Improved Selectivity for the Binding of Naphthyridine Dimer to Guanine-Guanine Mismatch, K. Nakatani, S. Sando, and I. Saito, *Bioorganic & Medicinal Chem.* 9, 2381-2385 (2001).
104. Design of Hole-rapping Nucleobase: Termination of DNA Mediated Hole Transport at N2-Cyclopropyldeoxyguanosine. K. Nakatani, C. Dihno and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* 123, 9681-9682 (2001).
105. 2-Amino-7-deazaadenines Form Stable Base Pairs with Cytosine and Thymine. A. Okamoto, K. Tanaka and I. Saito, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, 12, 97-99 (2002).
106. Recognition of Guanine-Guanine Mismatches by Dimeric Form of 2-Amino-1,8-naphthyridine. Nakatani, S. Sando, H. Kumasawa, J. Kikuchi and I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* 123, 12650-12657 (2001).
107. Design, Synthesis, DNA Binding and Biological Evaluation of Water-Soluble Hybrid Molecules Containing Two Pyrazole Analogues of the Alkylating Cyclopropylpyrroloindole (CPI) Subunit of the Antitumor Agent CC-1065 and Polypyrrole Minor Groove Binders. Baraldi, G.; Balbone, G.; Pabani, M.G.; Spalluto, G.; Clercq, E.; Balzarini, J.; Bando, T.; Sugiyama, H.; Romagnoli, R. *J. Med. Chem.* 2001, 44, 2536-2543.
108. Synthesis of 6-(2-Thienyl) purine Nucleoside Derivatives That Form Unnatural Base Pairs with Pyridin-2-one Nucleosides. Tsuyoshi Fujiwara, Michiko Kimoto, Hiroshi Sugiyama, Ichiro Hirao, Shigeyuki Yokoyama: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11 (2001), 2221-2223.
109. Mutagenic effects of 5-formyluracil on a plasmid vector during replication in *Escherichia coil*. I. Miyabe, Q.-M. Zhang, H. Sugiyama, K. Kino and S.Yonei: *J. Radiat. Biol* 2001, Vol.77, 1, 53-58.
110. Amplification of bleomycin-induced DNA Cleavage at Cytosine Residues 3' to GGG Sequences by Pyrrole Triamide. Y. Hiraku, S. Oikawa, K. Kuroki, H. Sugiyama, I. Saito and S.

- Kawanishi, *Biochem Pharmacol.* 61, 351-356 (2001).
111. Site-specific DNA Damage at the GGG sequence by UVA Involves Acceleration of Telomere Shortening. S. Oikawa, S. Tada-Oikawa and S. Kawanishi, *Biochemistry* 40, 4763-4768 (2001).
 112. Theoretical Studies on the Magnetic Interaction and the Reversible Dioxygen Binding of the Active Site in Hemocyanin, Y. Takano, S. Kubo, T. Onishi, H. Isobe, Y. Yoshioka, and K. Yamaguchi, *Chem. Phys. Lett.*, 335, 395-403 (2001).
 113. EHF Theory of Chemical Reactions V. The Nature of Manganese-Oxygen Bonds by Hybrid Density Functional (DFT) and Coupled-Cluster (CC) Methods, H. Isobe, T. Soda, Y. Kitagawa, Y. Takano, T. Kawakami, Y. Yoshioka, and K. Yamaguchi, *Int. J. Quant. Chem.*, 85, 34-43 (2001).
 114. Modulation of remote DNA Oxidation by Hybridization with Peptide Nucleic Acids. A. Okamoto, K. Tanabe, C. Dohno and I. Saito, *Bioorganic & Medicinal Chem.* 10, 713-718 (2002).
 115. Theoretical Studies of Magnetic Interactions in $\text{Mn(II)(hfac)}_2\{\text{di-(4-pyridyl)phenylcarbene}\}$ and $\text{Cu(II)(hfac)}_2\{\text{di-(4-pyridyl)phenylcarbene}\}$, Y. Takano, Y. Kitagawa, T. Onishi, Y. Yoshioka, K. Yamaguchi, N. Koga, and H. Iwamura, *J. Am. Chem. Soc.*, 124, 450-451 (2002)
 116. Photoreactivity of 5-iodouracil-Containing DNA-Sso7d Complex in Solution: The Protein-indicated DNA Kinik Causes Interstrand Hydrogen Abstraction from the 5-Methyl of Thymine at the 5' Side. Takanori Oyoshi, Andrew H.-J. Wang and Hiroshi Sugiyama: *J. Am. Chem. Soc.* 2002, in press.
 117. Photochemistry of Benzophenone Immobilized in a Major Groove of DNA: Formation of Thermally Reversible Interstrand Cross-link. *J. Am. Chem. Soc.* in press.
 118. Photoreactivity of 5-iodouracil-Containing DNA-Sso7d Complex in Solution: The Protein-indicated DNA Kinik Causes Interstrand Hydrogen Abstraction from the 5-Methyl of Thymine at the 5' Side. Takanori Oyoshi, Andrew H.-J. Wang and Hiroshi Sugiyama: *J. Am. Chem. Soc.* 2002, in press
 119. Deoxyribonolactone Formation in Photoirradiation of 5-Bromuracil-containing Oligonucleotides by Direct C' Hydrogen Abstraction. K. Fujimoto, Y. Ikeda, S. Ishihara and I. Saito, *Tetrahedron Lett.*, in press.
 120. Suppression of DNA-mediated Charge Transport by BamH I Binding. K. Nakatani, C. Dohno, A. Ogawa and I. Saito, *Chem. Biol.*, in press

(2) 特許出願

国内

1. DNA の特定塩基配列をアルキル化する化合物及びその合成法
発明者：齋藤 烈、杉山 弘、陶 志福
2. 光感応性ヌクレオシドおよびそのフォスフォアミダイト
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、藤澤和彦、中村 卓、堂野主税
3. 2本鎖DNAを切断できる化合物及びその使用方法
発明者：齋藤 烈、杉山 弘、陶 志福

4. ビピリジン結合 DNA オリゴマー及びその製造法
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、山東信介、萩原伸也
5. 可逆的光連結性核酸及びその為のフォスフォアミダイト
発明者：齋藤 烈、藤本健造、松田成夫
6. 生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発
発明者：杉山 弘、齋藤 烈、飯田博一
7. バルジ塩基認識分子及びそれらを含む DNA
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、山東信介
8. ミスマッチ認識分子
発明者：中谷和彦、齋藤 烈、山東信介
9. 5-ピリミジン含有核酸、それを用いた可逆的連結方法
発明者：齋藤 烈、藤本健造、松田成夫
10. インターストランドクロスリンク剤の合成
発明者：杉山 弘、板東俊和、飯田博一、齋藤 烈
11. テロメア結合分子、それを用いた方法
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、山東信介
12. 可逆光連結性核酸とフォスフォロアミダイト
発明者：齋藤 烈、藤本健造、松田成夫
13. 固相上に固定化された光連結核酸
発明者：齋藤 烈、藤本健造、芳野英明
14. DNA、RNA 中特定シトシンの点変異手法
発明者：齋藤 烈、藤本健造、松田成夫
15. デアザアデニン基を含む核酸およびそのためのフォスフォロアミダイト
発明者：齋藤 烈、岡本晃充、田中一生
16. シクロプロピル基含有 DNA
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、堂野主税、小川敦司
17. 正孔輸送能を持つ核酸塩基とそれを含む DNA
発明者：齋藤 烈、岡本晃充、田中一生

海外

1. DNA 特定塩基配列をアルキル化する化合物
発明者：杉山 弘、陶 志福、齋藤 烈
2. 2 本鎖 DNA を切断できる化合物及びその使用方法
発明者：杉山 弘、陶 志福、齋藤 烈
3. 可逆的光連結性核酸とフォスフォロアミダイト
発明者：齋藤 烈、藤本健造、松田成夫

4. バルジ塩基認識分子及びそれらを含有する DNA
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、山東信介
5. ミスマッチ認識分子
発明者：齋藤 烈、中谷和彦、山東信介
6. 生理活性をもつピロールイミダゾール誘導体のスクリーニング法の開発
発明者：杉山 弘、齋藤 烈、飯田博一
7. 5-ピリミジン含有核酸、それを用いた可逆的連結方法
発明者：齋藤 烈、藤本健造、芳野英明、松田成夫
8. インターストランドクロスリンク剤の合成方法
発明者：杉山 弘、飯田博一、板東俊和、齋藤 烈

(3) 受賞、新聞報道等

① 受賞

1. 杉山 弘 1999 年 12 月 第 13 回日本 IBM 科学賞
「DNA の原子特異的反応性に関する研究」
2. 川西正祐 2001 年 4 月 日本衛生学会賞
「環境因子による遺伝子損傷および発癌性予知に関する研究」
3. 岡本晃充 2001 年 有機合成化学協会研究企画賞
「DNA 二重らせん構造を利用した機能分子の集積化による新しい機能材料の開発」
4. 及川伸二 2001 年 7 月 日本光医学・光生物学会奨励賞
「UVA による酸化的 DNA 損傷およびテロメア短縮促進」
5. 大吉崇文 2001 年 6 月 Gordon コンフェレンス-Bioorganic Chemistry ポスター賞
6. 齋藤 烈 2002 年 3 月 日本化学会賞
「DNA に関する生物有機化学的研究と機能分子の創製」

② 新聞報道

- | | | |
|--------|------------------|--------------|
| 日刊工業日報 | 2000 年 9 月 18 日 | ドラッグデザイン |
| 読売新聞 | 2000 年 12 月 30 日 | 遺伝子検出に新手法 |
| 朝日新聞 | 2000 年 12 月 30 日 | 遺伝子個人差新たな検出法 |
| 化学工業日報 | 2001 年 10 月 15 日 | 次世代分子ワイヤーに期待 |