

令和元年6月5日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08153

研究課題名(和文) 化学修飾環状核酸の新機能創出

研究課題名(英文) Creation of new function of chemically-modified cyclized nucleic acids

研究代表者

鬼塚 和光 (Onizuka, Kazumitsu)

東北大学・多元物質科学研究所・准教授

研究者番号：00707961

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ロタキサンやカタenanのような環状分子を中心とするインターロック型の分子構造体は、そのユニークな構造や性質のため、様々な研究が試みられている。本研究では独自に開発した擬ロタキサン形成核酸を利用し、新しい機能の創出を目指した。(1) 擬ロタキサン形成人工核酸の翻訳反応に及ぼす効果の知見を得ることを目的に研究を行い、15%程度の阻害能を観測した。(2) さらに化学修飾した人工核酸を用いることで、RNA切断機能を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RNAに対しオリゴヌクレオチド(ON)を用いて二本鎖を形成させ蛋白質発現を制御するアンチセンス法は、長年創薬に向けた研究が行われている。本研究では従来のアプローチとはまったく異なる、標的RNAと強く結合する新しいアプローチを考案した。今回、我々は二つの分子が、「直接共有結合でつながってはいないが外れもしない」というロタキサンの性質に着目した。ロタキサンは、輪の中にひも状の分子が貫通した構造である。標的RNAを軸に、ロタキサン様構造を形成させることで、RNAに巻き付く極めて安定な複合体を形成し、効率的にリボソームの進行を止めることができると考え本研究を実施した。

研究成果の概要(英文)：Rotaxane is a molecular architecture consisting of a dumbbell-shaped molecule which is threaded through a molecular ring. To further expand the unique properties of the rotaxane into the chemical biology field, a spontaneous rotaxane formation method with the target would be ideal. For example, a functional nucleic acid, which can spontaneously form the rotaxane-like structure with mRNA, might tightly bind to mRNA and strongly inhibit the translation reaction using the static property of the rotaxane. In this study, we inhibited the translation reaction using a pair of pseudorotaxane-forming oligo DNAs developed by our group. In addition, we found that chemically-modified oligo DNA cleaved the target RNA.

研究分野：生物有機化学

キーワード：機能性核酸 DNA RNA ロタキサン 切断 環状

RNA c4G b4)xD 8507(64G D □
 8pm SK8G b
 6P g BIO.2ADM 2c6p. ES%2/□
 uXb8 □ ON 09F48G bP
 M □ MX b □ K □ □
 ON c □ mRNA BK w) gBK □
 2A7AKK #8S21 c w) gBM □
 3b84SB6S
 u98bX #8
 68c4H q1 □
 806(1b4: c
 6S □
 G b 1b 2c b □
 c r SC □
) MK 8 □ RNA IC
 C □ c □ X b (K □ DKS G □
 c88vK88 r □ w) □ X □
 b 2A □ %T% KSEBobpf
 vgb(23K b g □
 XCG fr 3b #8S46 □
 & Fig. 2 □ RNA 3HS
 4 & RNA 8S u g BI □
 OG □ RNA %KX88 □
 vK8X r □ RNA sAC u □
 0 g BK b □
 4/E u GA □ %2% T m
 KS & Fig. 1 □

RNA BK □ (ON) 8 □

6 & Fig. 11K S
 b4/ u G □

D7H

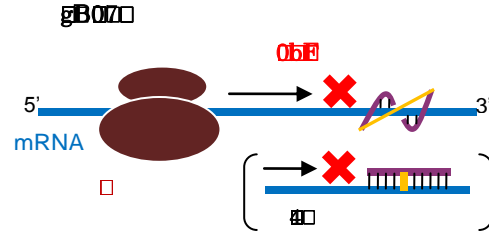


Fig. 1 07b □



OXb(□ %KX88 □
 vK88 b c □
 d □

Fig. 2 b □

g p l & pseudorotaxane-forming oligo DNA, prfODN □ b6BK8
 S & Fig. 3, JACS, 2014, 136, 7201 □ M U □ b □ o b □ prfODN(1), (2) □ □
 BK6P g BMG EN b □ S n 2
 o d □ ODN(1) □ ODN(2) d IS □ DBCO & M s e X □
 3K K 50 y K b 6 B I □ d 3 H M S 4 □
 BM □ □ %2c □ □ g BS (I S 4 □ b o b M S
 u o b % % 2 / S □

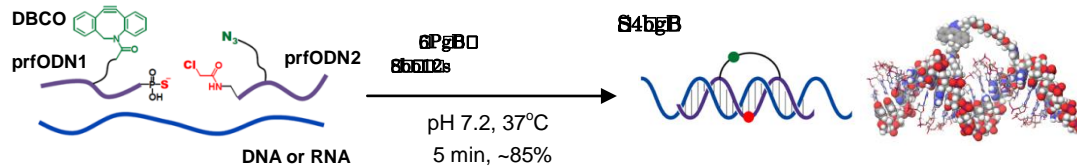


Fig. 3. prfODN □ □ g B o □

0, % 2 b % □
 (1) □ : g B □ d □ b o b p M b % 0 b G %
 M □
 (2) RNA) □ : prfODN b 4 I S M G □ □ RNA b 4 4 4 E □
 □ □ b p % M □ □

□ % □ 2 b 2
 (1) □ □ □ mRNA BK □ □ prfODN □ 2'-OMe 8 K S prfON
 8 g B I O G b mRNA 8 0 9 (□
 0 6 4 B M b i m G g B □
 0 7 m & Fig. 1 □ □ RNA) b p □
 (2) □ □ prfODN b S 4 6 p b 0 % & 6 % 2 / p □
 o d / K S S 4 c O 6) d S 6 P b 4 b N V □ b S 4 d □
 (M G O & g I S G □ RNA b) 1 r C K 3 K □ RNA) A b □
 M d □
 c 8 S □ Fig. 4 (M O & g M □ X b e X I (□

rcON 0
 (4)KS
 OKS4b
 A 6Pc74 B 6Pc
 (4)MGGb
 rcON
 cMsq7H%&/6P
 6PgBMGA
 rS1(2dVX
 8G
 77%&8
 %&/6P4K3K
 4/M
 GKS

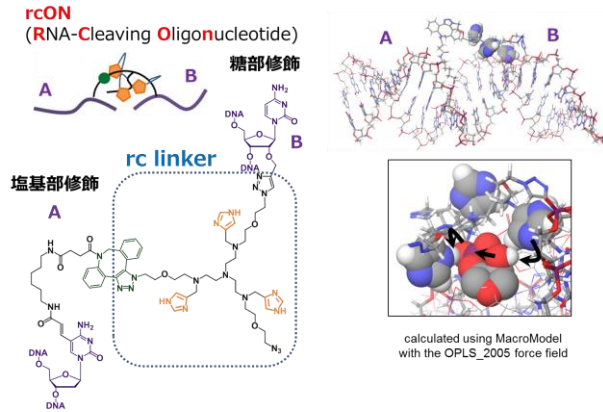
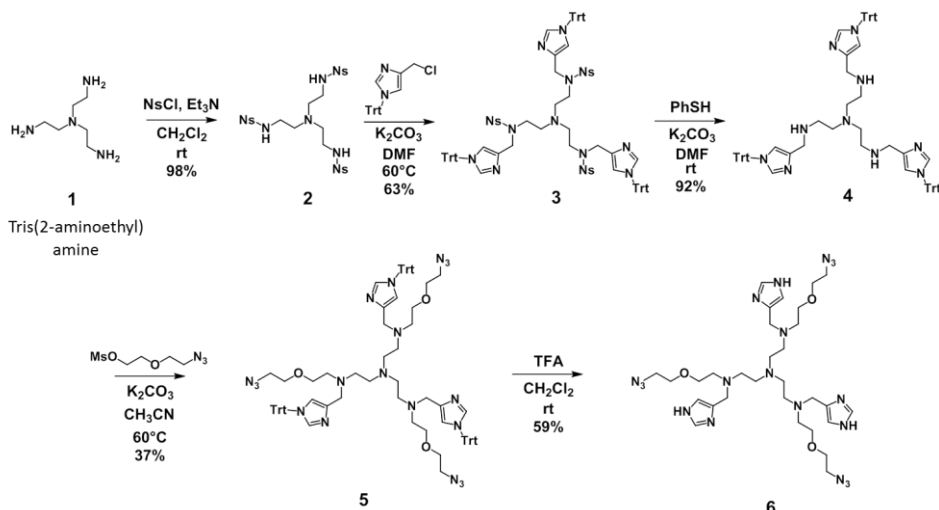


Fig. 4. RNA cleavage

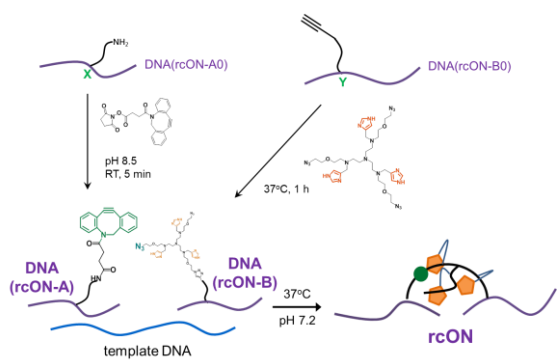
228
 (1) 07bSub prfODN g prfON b 8 firefly mRNA b
 44K firefly mRNA b ORFpM4 A 0
 KSM18443K844
 %&/MPb prfODN g 2'-OMe 8KS prfON 00KS b
)U44N S4gBAG
 S
 OD : KS prfON b070KSrN b
 44X mRNA PKBKS prfON 8 gBIOS)F8 b
 mRNA g(8 0906780K
 S b) OKS prfON 15%&70ISKK 07b
 07bSu(eS Sub4b7BM
 Y(vb6S
 S4B(KS)S(MS4Edt8
 eMM8)SGe23S4bG
 407b(KS6ub6G Gb 2S(ASqb c % 20
 &bvb6S IIS4 23S4/S MG w
)bA vKS

(2) rc bB rc bB scheme /gM Tris(2-aminoethyl)amine
 Nq &BIF8
 8q TFA b100KS rc 6 BKS)F
 8 rcON bB scheme 2 &gMgb rcON c DBCO SIS DNA(rcON-A) rc
 linker SIS DNA(rcON-B) DNA 6P DNA
 6PgBIOG DBCO K3IO A 6P B 6P6DIO
 GOKS rcON-A c4b X b)(SIS8 rcON-A0
 DNA B/(BK DBCO Nq6IOG
 S rcON-B c4b Y b)(SIS8 rcON-B0B
 K rc linker b6IOGS rcON-A B 8
 rcON bB/S 16 mer b DNA A 6P B 6P 1:1 KS



Scheme 1. rc bB

HPLC V 2 X b A S G b m K
 MALDI-TOF-MS (5 K S G b)
 K S G b DBCO V D
 K RNA M K S



Scheme 2. rcON bB

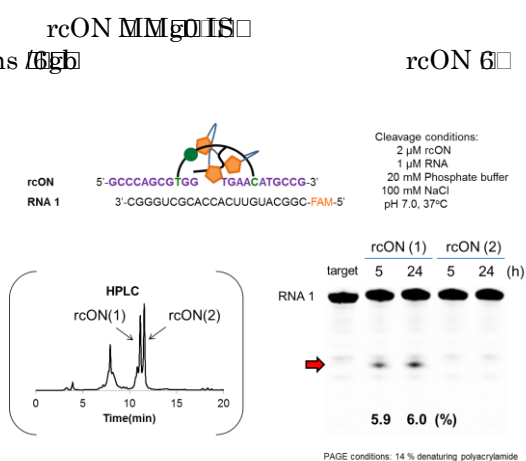


Fig. 5. rcON RNA bD

5 6 2 4 6 2 4 6 4
 rcON RNA bK 2 5 6 10
 K S G b
 & Fig. 5 G b 0 b p 5 6 24 6 10 b p to M K S
 G 2 8 6 6 3 2 K S G
 S K S G b
 M G 4 6 5 4 K 8 8 G
 K 8 8 S G S b p
 K 8 8 S 0 b q b E 8 9 8 G
 % b q K 9 9 b M 0 y 1 1 4
 b p 0 % M

3 \$1e

7 1 1 & 0 5
 q Structural optimization of pseudorotaxane-forming oligonucleotides for efficient and stable complex formation, Onizuka, K., Miyashita, T., Chikuni, T., Ozawa, M., Abe, H., Nagatsugi, F, *Nucleic Acids Research*, 46, 8710-8719 (2018) □ □ 1 □ □ w (DOI: 10.1093/nar/gky744)
 r Selective alkylation of T-T mismatched DNA using vinyldiaminotriazine-acridine conjugate, Onizuka, K., Usami, A., Yamaoki, Y., Kobayashi, T., Hazemi, M. E., Chikuni, T., Sato, N., Sasaki, K., Katahira, M., Nagatsugi, F., *Nucleic Acids Research*, 46, 1059-1068 (2018) □ □ w (DOI: 10.1093/nar/gkx1278)
 s Alkylating probes for the G-quadruplex structure and evaluation of the properties of the alkylated G-quadruplex DNA, Sato, N., Takahashi, S., Tateishi-K., H., Hazemi, M. E., Chikuni, T., Onizuka, K., Sugimoto, N., Nagatsugi, F., *Organic & Biomolecular Chemistry*, 16, 1436-1441 (2018) □ □ w (DOI: 10.1039/c7ob03179c)
 t Vinyldiaminotriazine-acridine conjugate as G-quadruplex alkylating agent, Hazemi, M. E., Onizuka, K., Kobayashi, T., Usami, A., Sato, N., Nagatsugi, F., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26, 3551-3558 (2018) □ □ w (DOI: 10.1016/j.bmc.2018.05.030)
 D □ Onizuka, K., Chikuni, T., Amemiya, T., Miyashita, T., Onizuka, K., Abe, H., Nagatsugi, F., Pseudorotaxane formation via the slippage process with chemically cyclized oligonucleotides, *Nucleic Acids Research*, 45, 5036-5047 (2017) □ □ w (DOI: 10.1093/nar/gkx265)
 D □ Onizuka, K., Hazemi, M.E., Thomas, J.M., Monteleone, L.R., Yamada, K., Imoto, S., Beal, P.A., Nagatsugi, F., Synthesis of native-like crosslinked duplex RNA and study of its properties, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25, 2191-2199 (2017) □ □ w (DOI: 10.1016/j.bmc.2017.02.034)
 D % Yamada, K., Ishiyama, S., Onizuka, K., Nagatsugi, F., Synthesis and properties of cross-linkable DNA duplex using 4-amino-2-oxo-6-vinyl-1,3,5-triazine, *Tetrahedron*, 73, 1424-1435 (2017) □ □ w (DOI: 10.1016/j.tet.2017.01.043)

2019
 65%
 99
 Madoka E. Hazemi
 Chemical reactions accelerated on nucleic acids and their applications
 2018
 Bio. Phys. Chem. U51bH
 2018
 Kazumitsu Onizuka, Jumpei Matsuyama, Takuya Miyashita, Yuuya Kawasaki, Kazunobu Igawa, Katsuhiko Tomooka, Fumi Nagatsugi, Nucleic Acid Templated Reactions and Automatic Pseudorotaxane Formation, The 1st International Symposium on Middle Molecular Strategy for Young Scientists, Kobe, 2018
 RNA
 2018
 ON
 2018
 RNA
 98
 2018
 RNA
 98
 2018
 RNA
 2018
 RNA
 138
 2018
 RNA
 13
 2018
 4 G
 2018
 Hazemi E. Madoka
 2 G
 2018
 Kazumitsu Onizuka, Jumpei Matsuyama, Takuya Miyashita, Yuuya Kawasaki, Kazunobu Igawa, Katsuhiko Tomooka, Fumi Nagatsugi, Spontaneous pseudorotaxane formation targeting nucleic acids, XXIII International roundtable on nucleosides, nucleotides and nucleic acids, San Diego (USA), 2018
 Kazumitsu Onizuka, Jumpei Matsuyama, Takuya Miyashita, Yuuya Kawasaki, Kazunobu Igawa, Katsuhiko Tomooka, Fumi Nagatsugi, Spontaneous pseudorotaxane formation targeting nucleic acids and fluorogenic click chemistry, The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2018, Kyoto, 2018
 Mechanistic study of pseudorotaxane formation via the slipping process targeting on nucleic acids
 97
 2017
 Madoka Eurika Hazemi,
 Selective G-quadruplex alkylation by vinyl triazine derivatives
 97
 2017
 Sub
 97
 2017
 #
 m
 2017
 T-T S
 2017
 DNA pb T-T S
 2017

