

研究種目：基盤研究 (A)
研究期間：2007-2010 (平成19年度～平成22年度)
課題番号：19205023
研究課題名 (和文) DNAの構造と反応性に関するケミカルバイオロジー研究

研究課題名 (英文) Chemical Biology of DNA Structure and Functions

研究代表者

杉山 弘 (SUGIYAMA HIROSHI)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：50183843

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学 (4706)

キーワード：核酸・蛋白質・構造機能解析・光反応性・修飾塩基・5-ハロウラシル

1. 研究計画の概要：

申請者のグループでは光の細胞透過性に着目し、細胞内のチミンを5-ハロウラシルで置換し、その光反応性を用いてDNAの構造解析を行なうことを目指し基礎研究を進めてきた。本研究では、DNAの構造と機能の制御に関する化学的研究を推進することによって、遺伝子発現に連動したDNAのダイナミックな構造変化を解明し、特定遺伝子の一般的な発現制御法の開拓を目的としている

2. 研究の進捗状況：

(1) 19年度は、Z型DNAや染色体末端のテロメアが形成する4本鎖領域に選択的に結合する新規機能分子を設計・合成し、プレートリーダーを用いて構造特異的な結合特性評価を網羅的にすすめることとしていた。しかし、十分な機能性を有する新規機能分子を見出すことができなかったため、候補化合物群の誘導体合成に努めた。一方、細胞内ゲノム中での特異的な遺伝子発現制御に関する研究の一環として、現有のFmoc固相合成法によりPy-Imポリアミド合成の効率化を行ない、新規機能性ポリアミドの合成と機能評価を行った。その結果、10塩基対の認識塩基配列を有する機能分子設計の改善が進み詳細を論文に報告した。

(2) 20年度は、転写開始領域で観察されるグアニン連続配列や、染色体末端のテロメア配列で形成される4本鎖領域を対象として、有機化学と光化学の両側面から構造特異的な特性評価を網羅的に進めた。特に、ヒトテロ

メア配列の4本鎖形成能が生体内の安定なリアット構造の形成に関与していることをDNAフラグメントのPAGE解析に基づいて確認し、論文として報告した。

(3) 21年度は、転写開始領域近傍で観察されるグアニンに富む連続配列や、ヒト染色体末端のテロメア配列、GGGTTA繰返配列で形成されるG-4本鎖構造と機能に関して研究を進めた。単分子FRET測定技術を4本鎖構造の確認に応用することにも成功し、これまでの研究成果を活かして、光化学から遺伝子有機化学全般に関わる構造特異的な機能評価を実施した。特に、ヒトテロメア配列の主な4本鎖構造を、DNAフラグメントのNMR解析に基づいて詳細に解析し、論文として報告した。

2. 現在までの達成度：

②おおむね順調に進展している。

(理由)

(1) 初年度に新規候補化合物の選定の為に評価の開始が遅れたものの、現在、候補化合物の化学的評価は終わり、細胞生物学的評価を進行している段階である。最終年度には、査読の有る論文として投稿の準備を整えている。

(2) DNA高次構造解析や遺伝子制御技術への応用に向けた研究は、当初設定した研究目的の実現に向けて、査読の有る論文や国際・国内の学会発表等を通じて、研究成果を社会に報告していると考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

現在、最終年度での更なる細胞生物学的な応用を目指して、5-ハロウラシルと5-ハロシトシンの構造に起因した基礎的な光反応性の確認、及び、大腸菌 DNA 内における G-カルテット構造の光反応を活用した検出技術の応用に向けた検討を進めている。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- 1) Sannohe, Y.; Sato, K.; Matsugami, A.; Shinohara, K.; Mashimo, T.; Katahira, M.; Sugiyama, H. The Orientation of the Ends of G-Quadruplex Structures Investigated using End-Extended Oligonucleotides. *Bioorg. Med. Chem.* **17**, **2009**, 1870-1875. (英文査読有)
- 2) Okamoto, K.; Sannohe, Y.; Mashimo, T.; Sugiyama, H.; Terazima, M. G-Quadruplex Structures of Human Telomere DNA Examined by Single Molecule FRET and BrG-Substitution, *Bioorg. Med. Chem.* **16**, **2008**, 6873-6879. (英文査読有)
- 3) Wilson, W. D.; Sugiyama, H. Meeting Review: First International Meeting on Quadruplex DNA. *ACS Chem. Biol.* **2**, **2007**, 589-594. (英文査読有)
- 4) Matsugami, A.; Xu, Y.; Noguchi, Y.; Sugiyama, H.; Katahira, M. Structure of a Human Telomeric DNA Sequence Stabilized by 8-Bromoguanosines, as Determined by NMR in a K⁺ Solution. *FEBS Journal.* **274**, **2007**, 3545-3556. (英文査読有)
- 5) Watanabe, T.; Tashiro, R.; Sugiyama, H. Photoreaction at 5'-(G/C)AA^{Br}UT-3' Sequence in Duplex DNA: Efficient Generation of Uracil-5-yl Radical by Charge Transfer. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, **2007**, 8163-8168. (英文査読有)
- 6) Sugiyama, H. Chemical Biology that Controls DNA Structure and Function: Lessons in Organic Chemistry from Nature. *Bull. Chem. Soc. Japan.* **80**, **2007**, 823-841. (英文査読有)
- 7) Xu, Y.; Hirao, Y.; Nishimura, Y.; Sugiyama, H. I-Motif and Quadruplex-based Device that can Perform Particular Actions to Influence Biological Processes. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, **2007**, 1275-1279.

(英文査読有)

- 8) Xu, Y.; Tashiro, R.; Sugiyama, H. Photochemical Determination of Different DNA Structures. *Nature Protocols* , **2**, **2007**, 78-87. (英文査読有)

[学会発表] (計 6 件)

- 1) 杉山 弘, "光で核酸の構造と物性を観る", 第 31 回日本光医学光生物学会、大阪、2009 年 7 月
- 2) 杉山 弘, "DNA の構造と機能をあやつるケミカルバイオロジー", シンポジウム「革新的量子化学の展望」、京都市、2009 年 5 月
- 3) Sugiyama, H. "Chemical biology that controls DNA structure and function", The 5th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo, November, 2007.
- 4) Sugiyama, H. "Photochemistry of 5-halouracil-containing DNA", 12th Congress of the European Society for Photobiology, Bath, U.K. September 2007.
- 5) Sugiyama, H. "Chemistry that Controls DNA Structure and Function" East China University of Science and Technology, Shanghai, China, August 2007.
- 6) Sugiyama, H. "Chiral wedge molecule inhibits telomerase activity" First International Meeting on Quadruplex DNA, Louisville, KY, USA, April 2007.

[図書] (計 1 件)

- 1) R.F. Weaver 著, 杉山 弘・井上 丹・森井 孝 監訳, 化学同人, ウィーバー分子生物学 第 4 版, 2008, 1022.

[その他]

ホームページ (研究業績・論文リスト参照)
<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/chembio/>