

2021 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	谷口 陽祐
研究機関名	九州大学
所属部署名	大学院薬学研究院
役職名	准教授
研究課題名	非天然核酸による損傷 DNA シーケンシング技術の創成
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究課題では、遺伝子の情報を蓄えている DNA の傷の一つである、酸化損傷塩基を認識可能な人工核酸を合成し、これまで誰も為し得なかった「損傷核酸の損傷 DNA シーケンシング技術」の創成を行うことを目的としている。当該年度の研究成果として、これまでの成果をもとに新たに設計したプリン骨格の 7 位の窒素原子を炭素原子に置き換えた 7-デアザ-Pdap (purine-1,3-diazaphenoxazine) の合成を達成した。トリリン酸体へ誘導し酵素反応へ適用した結果、反応には化合物の物性が大きく影響することが明らかになった。このことは、次なる化合物の分子設計に非常に重要な情報となる。また、天然型のトリリン酸体の酵素反応親和性の低下を期待して、トリリン酸 γ 位のワンポットアミド化反応を開発した。この反応は、購入可能な DNA タイプである dATP, dGTP, dCTP および TTP さらには RNA タイプである ATP, GTP, CTP および UTP に適用可能であった。このときグアニン誘導体とチミン（ウラシル）誘導体では、核酸塩基部分と縮合剤の付加体である副生成物が観測されたが、反応液をそのままアルカリ性溶液で処理することにより、目的化合物である γ アミドトリリン酸体へ効率的に誘導することが可能であることも明らかにした。これら γ アミドトリリン酸体を用いてポリメラーゼ伸長反応に適用したところ、未修飾のトリリン酸体の塩基選択性をそのまま保っていることが示された。取り込み効率に関して、一塩基伸長反応定常状態速度論パラメーターを算出し未修飾トリリン酸体と γ アミドトリリン酸体を比較したところ、 γ アミドトリリン酸体の方が 10 倍以上取り込まれにくくなっていることも明らかにした。これらの成果は、人工核酸トリリン酸を DNA シーケンシング技術に展開するときに利用可能なトリリン酸誘導体化合物の性質を明らかにした最初の例である。