

2022 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	2022 年 4 月 1 日～2023 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、酸化損傷核酸の一つである 2-ヒドロキシ-2'-デオキシアデノシン (2-OH-dA) と特異的な水素結合形成可能な新規人工核酸の分子設計を行った。この分子は、2-OH-dA の DNA 中の互変異性構造に着目して、自身も互変異性化することにより安定な水素結合を形成できるのではないかという着想により設計を行った。数工程を経ることにより目的の新規化合物 (シュード dC ( $\psi$ dC)) の化学合成に成功した。まず、オリゴヌクレオチド (ODN) に組み込み塩基対形成能の指標となる融解温度測定を行った結果、非常に選択的かつ安定に  $\psi$ dC を含む ODN は 2-OH-dA を含む ODN を認識できることを明らかにした。また、トリリン酸体である  $\psi$ dCTP へ誘導して DNA ポリメラーゼを用いた一塩基伸長反応を行ったところ、鋳型鎖に 2-OH-dA が存在するときに、相補的な位置で伸長鎖に対して  $\psi$ dCTP が取り込まれることも明らかにした。そこで、定常状態速度パラメーターを算出したところ、非常に高い選択性かつ取り込み効率にて酵素により認識されていることも明らかにした。さらに、シーケンシング技術への展開として、プライマー伸長反応を行ったところ、2-OH-dA を含む鋳型鎖に対して、dNTP のみでは伸長反応が起らなかったのに対し、dNTP と  $\psi$ dCTP 共存下において全長付近まで伸長反応が進行することを見いだした。これらの成果は、今後の展開における DNA 鎖中の損傷核酸の位置を読み取るための基盤技術になると考えられる。