

## 新しい機能性核酸の開発と応用

日大工・生命 齋藤 義雄

平成29年3月より平成28年度海外派遣研究員(長期)として一年間、カナダオンタリオ州のロンドン市にあるウエスタン大学(The University of Western Ontario)に滞在し、研究を行う機会に恵まれた。ウエスタン大学は、1881年に設置された州立大学で(カナダの大学はほとんどが州立大学である)、その中で理学部(Science)化学科(Chemistry)のRobert H. R. Hudson教授の研究室で修飾ペプチド核酸(PNA)と修飾DNAに関する研究に取り組ませていただいた。本発表ではそれらの詳細についての報告を行う。

ペプチド核酸PNA(Peptide Nucleic Acid)は1991年にニールセンらによってはじめて報告されたDNAアナログであり、DNAやRNAの主鎖に見られる電荷を有するリン酸ジエステル結合の代わりにアミド結合を有する非天然のポリマー分子である。DNAやRNAは、主鎖にそれぞれ2'-デオキシリボースおよびデオキシリボースといった糖構造を有するのに対して、PNAではそれらの糖に代わって、N-(2-アミノエチル)グリシンが用いられている。また、PNAは通常アデニンA、グアニンG、チミンT、シトシンCなどのDNAと類似の塩基部位を有しており、DNAと同様に相補的な配列を有するPNAやDNA、RNAとハイブリダイズして二重鎖を形成することが可能である。

任意の配列を有する20mer程度の短いDNAやRNAは、DNA/RNA自動合成機を用いることで数時間で合成することが可能であるが、ペプチド構造を有するPNAの場合には、ペプチド合成機を用いることで、同様に短い配列であれば一晩程度で合成することが可能である(さらに、DNAなどに比べて大きいスケールでの合成が容易である)。天然のDNAや

RNAは生体内においてヌクレアーゼなどの酵素によって容易に分解されてしまうためプローブを作成する際には、酵素分解されないような工夫を施す必要があるが、もともと非天然の構造を有するPNAは、ヌクレアーゼやプロテアーゼといった酵素に耐性であるため、そのような心配は不要でありプローブとして応用しやすいといった利点がある。また、先ほど述べたように、PNAにはDNAやRNAに存在するようなリン酸部位の電荷が存在しないため、相補鎖とハイブリダイズする際の安定性に対する塩濃度の影響が少ないということが知られている。さらには、リン酸部位の負電荷が存在しないために静電反発の影響が小さく、PNA/DNAの2重鎖はDNA/DNAの2重鎖よりも強い結合を形成することが知られている。このようなことから、修飾PNAオリゴマーはPNAプローブとして病気の診断やアンチセンス療法等の治療への応用が期待されている。

このように、良い事ばかりに見えるPNAであるが、実際にプローブとして利用しようと考えると、いくつかの問題点があることが知られている。その代表的なものの一つとして、その溶解性が挙げられる。PNAは、その非イオン性の構造のために、水溶液中で凝集してしまい溶解性が低下してしまうことがしばしば見られる。また、それに伴って同様の理由により細胞膜透過性も低下し、細胞への導入が困難なケースもしばしば見受けられる。そのため、本研究ではPNAに親水性置換基を導入したPNAモノマーを合成し、それを導入したPNA鎖を作成して、その特性、特に細胞膜透過性についての評価を行うこととした。

本発表ではそれらの詳細と、同時に進めていた蛍光核酸プローブの開発研究に関する発表を行う予定である。