



DNA 中の酸化損傷塩基（8-オキソグアノシン）を特異的に認識、検出する人工核酸

平成 23 年 5 月 2 日

九州大学大学院薬学研究院生物有機合成化学分野の佐々木教授、谷口助教および大学院生河口らは、DNA 中の酸化損傷塩基である 8-オキソグアノシン（8-oxodG）と特異的な塩基対を形成し、効率的な蛍光消光により検出を可能にする人工核酸の開発に世界で初めて成功しました。この人工塩基は構造上の特徴から Adap (Adenosine-1,3-diazaphenoxazine) と命名されました。細胞中の 8-oxodG レベルは老化やガンなどの疾患に関連しているため、重要な酸化ストレスマーカーと考えられています。これまで DNA 中の 8-oxodG の効率的な検出法はありませんでしたが、Adap を含む核酸プローブはヒトテロメア DNA 配列中の 8-oxodG の特異的な検出にも成功しており、今後 8-oxodG と疾患との関連性を解明するための分子ツールとしての発展性が期待されます。

この研究成果は、国際科学誌「Journal of the American Chemical Society」に 2011 年 4 月 27 日付けオンライン版で発表されました。

論文名

Yosuke Taniguchi, Ryota Kawaguchi, Shigeki Sasaki.

Adenosine-1,3-diazaphenoxazine Derivative (Adap) for Selective Base Pair Formation with 8-Oxo-2'-deoxyguanosine in DNA

J. Am. Chem. Soc. (2011) in press

研究の背景

細胞内の DNA は活性酸素種や活性窒素種などにより絶えず酸化損傷を受け、種々の酸化損傷塩基を生じている。8-オキソグアノシン（8-oxodG）はその代表例で、DNA 中の 8-oxodG レベルは、老化細胞、ある種のガン細胞や変性神経細胞中で増加していることが示されており、細胞の酸化ストレスマーカーとして重要視されている。これまで、HPLC や質量分析などの物理化学的手法や抗体を用いた検出法が開発されている。一方、疾患およびその発症リスクとの関連を詳細に研究するためには、DNA 中に発生する 8-oxodG を化学的、酵素的に処理を行わずにそのままの状態に配列情報を残したまま直接検出する方法の開発が望まれている。本研究では DNA 中の 8-oxodG の位置と量を決定できる人工塩基の開発したもので、8-oxodG に関連する研究の発展に非常に大きな貢献ができると期待される。

研究の成果

DNA 中の 8-oxodG 特有の立体構造に着目し、特異的な認識を可能にする人工核酸 (Adap: Adenosine-1,3-diazaphenoxazine) の設計を行った。認識塩基としてアデノシンを基本骨格として用い、蛍光性のフェノキサジン環をリンカーにより連結した。合成した核酸誘導体は DNA 自動合成装置により、DNA に導入を行い精製した。2 本鎖 DNA 形成の安定性の指標となる融解温度 (T_m 値) を測定したところ、Adap の相補的な位置に 8-oxodG がある時のみ T_m 値の上昇が観測された。この安定性は天然型の塩基対と同等かそれ以上であり、非天然型塩基対による DNA 中の 8-oxodG の認識に成功した。さらに、Adap 特有の蛍光を測定すると、相補的な位置に 8-oxodG がある時のみ蛍光消光が起こり、DNA 中の 8-oxodG の検出にも成功した。予備的な応用例として Adap を含む核酸プローブを用いてヒトテロメア DNA 配列中の 8-oxodG の特異的な検出にも成功した。

研究成果の意義

これまでの技術では不可能だった DNA 中の 8-oxodG の位置と量の決定を可能にする特異的認識機能をもつ人工核酸 (Adap: Adenosine-1,3-diazaphenoxazine) の開発に成功した。今回の成果及び更なる発展研究は、平成 23 年度九州大学研究教育プログラム・研究拠点形成プロジェクト (研究代表者: 谷口陽祐・助教) にも採択され、酸化ストレスの研究分野に大きな貢献が期待される。

J. Am. Chem. Soc.

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja200327u>

生物有機合成化学分野

<http://bioorg.phar.kyushu-u.ac.jp/>

お問い合わせ先

九州大学大学院薬学研究院生物有機合成化学分野教授 佐々木 茂貴 (ささき しげき)
TEL: 092-642-6615, e-mail: sasaki@phar.kyushu-u.ac.jp、助教 谷口陽祐 (たにぐち ようすけ)
TEL: 092-642-6569, e-mail: taniguch@phar.kyushu-u.ac.jp