

脱塩基部位認識分子の開発とDNA修復阻害剤への展開

阿部（貞松），由紀子

<https://doi.org/10.15017/4060264>

出版情報：Kyushu University, 2019, 博士（創薬科学），論文博士
バージョン：
権利関係：

氏 名 : 阿部(貞松) 由紀子

論文題名 : 脱塩基部位認識分子の開発と DNA 修復阻害剤への展開

区 分 : 乙

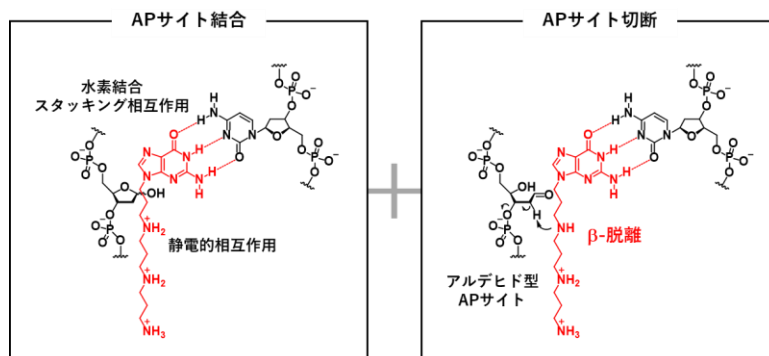
論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、代表的な DNA 損傷のひとつとして知られる脱塩基部位 (AP サイト) について、その化学的性質に基づく特異的分子を開発し、複雑な塩基除去修復機構に対する理解を深めるツールとするとともに、AP サイトの修復機構に干渉する事で細胞毒性を発揮する AP サイト修復阻害剤すなわち DNA 修復阻害剤への展開を目指した。そこで本研究では、①AP サイトの化学的性質に基づく特異的分子の開発、②AP サイト特異的分子の AP サイトに対する反応性の解析、③AP サイト修復阻害効果を発揮するための新規分子の開発を行った。

まずは AP サイトの相補位置の核酸塩基に注目し、AP サイト認識分子の開発にあたっては AP サイト空間内における水素結合を基本とした核酸塩基誘導体を開発する事にした。種々の天然核酸塩基とポリアミンの結合体リガンドは、AP サイト内における核酸塩基部の水素結合およびスタッキング相互作用により AP サイトを特異的に認識し、かつポリアミン部は DNA リン酸部との静電的相互作用により核酸塩基部の AP サイト認識を補助する。本リガンドの AP サイト空間内での水素結合および AP サイトを有する ODN2 本鎖との相互作用における親和性や熱力学的パラメーター等の詳細を、AP サイトアナログを用いた種々の測定より明らかにしリガンド核酸塩基部に応じた選択的な AP サイト認識を明らかにした。

また、核酸塩基-ポリアミン結合体リガンドにおけるポリアミンの役割として、DNA リン酸部との静電的相互作用のみならず、中性条件下において存在するポリアミン中の一部の電荷をもたないアミンによる AP サイトへの求核攻撃とこれに伴う AP サイトの β -脱離反応が期待される。AP サイトの β -脱離反応により生じる断片は AP サイト修復における 3'ブロックとなる事が知られており、AP サイト修復における多量の 3'ブロック生成は、修復の阻害または遅延を引き起こし結果として細胞毒性効果を発揮すると期待される。本リガンドの AP サイトに対する反応性、主に β -脱離反応について相補塩基の影響や AP サイト修復酵素 APE1 への影響を検討し、各核酸塩基-ポリアミン結合体が AP サイトに対して β -脱離反応を引き起こす事、特にプリン塩基を有するリガンドではその反応性が高い事を明らかにした。グアニンを有するリガンドはその水素結合能およびスタッキング能の高さから AP サイトの相補位置の塩基によらず高い β -脱離反応性を示し、これは、DNA 修復阻害剤への展開において有利に働くと考えられた。しかし、APE1 との競合実験ではリガンドによる競合阻害効果が得られたものの、高濃度のリガンドを要し、また、培養細胞を用いた細胞毒性効果の検討においても顕著な細胞

毒性効果は得られず、より顕著な AP サイト修復阻害効果を得るためにはリガンドの結合能および切断能向上が必要とされた。



そこで、これまでに得られた基礎的なリガンドの性質を基に新たに核酸塩基部としてチオグアニンを有するリガンドを設計し、AP サイトを有する ODN との共有結合形成に基づく結合能向上および修復阻害効果発揮を検討した。チオグアニンはグアニン同様に高い水素結合能、スタッキング能を有し、更にチオカルボニル部位によるピリミジン塩基との光環化反応や AP サイトβ-脱離断片との付加体形成が知られている。これらの共有結合形成反応が AP サイト認識向上と AP サイト修復阻害効果向上に有利に働く事を期待した。光反応によるリガンドと AP サイトを有する ODN2 本鎖との共有結合形成においては、種々条件を検討した結果、DTT 存在下、特定の配列においてのみ光反応が進行する事を明らかにした。チオグアニンリガンドが AP サイトに挿入されたのち、AP サイトを有する ODN の 3'側シトシンと光反応していると考えられ、詳細な構造決定には至らなかったがリガンドと AP サイトを有する ODN との付加体とほぼ一致する質量が質量分析から検出された。しかし反応には長時間を要し、光反応による付加体形成とそれに基づく AP サイト修復阻害には改善が必要とされる。

一方、チオグアニンリガンドと AP サイトβ-脱離断片との付加体形成については、種々の解析より効率的に起こる事が示された。チオグアニンリガンドは、グアニンリガンドと同様に、AP サイトの相補位置の塩基によらない高いβ-脱離反応性を有しており、核酸塩基部による AP サイトの認識と続くポリアミン部によるβ-脱離反応、更にはチオカルボニル部位による付加反応が起こり、AP サイトのβ-脱離断片末端で付加体を形成する。この付加体断片は AP サイト修復においてより強力な 3'ブロックとなると考えられ、新たに開発したチオグアニンリガンドの AP サイト修復阻害剤すなわち DNA 修復阻害剤への展開が期待される。

