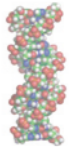


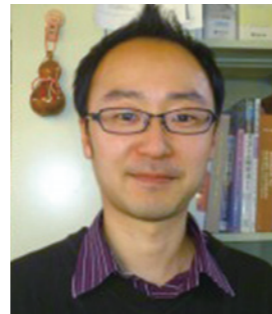
センターを中心に展開される研究



核酸化学：核酸医薬への展開を志向した高度機能化人工核酸の設計と化学合成、機能評価

研究内容:

化学と生命科学の融合によりケミカルバイオロジーという研究領域が切り拓かれました。有機化合物を基礎として生命科学を研究するこの学問は、生命現象を分子と分子との間の相互作用として捉え、それをありのままに可視化したり制御したりすることで、生命現象を化学の力で解き明かそうとする学問です。私達はこのケミカルバイオロジーの1領域として核酸化学を研究対象とし、核酸の高次構造を自在に制御できる分子や技術の創出を目指して研究を進めています。具体的には、精密分子設計と化学合成法の確立、核酸検出法や反応性化合物の開発、そして高度に機能化したオリゴヌクレオチドの創製と機能性評価を柱としています。加えて、創薬科学研究科の一員でもある私たちは、医薬品創製基盤研究に直結しているこれらの研究をもとに次世代医薬品として期待される核酸医薬への展開を志向した研究を実施しています。



准教授
児玉 哲也

化合物の精密分子設計とその化学合成法の確立:

ヌクレオシドやヌクレオチド、そして(オリゴ)核酸は、シグナル伝達やエネルギー供給、遺伝子発現制御など、タンパク質などと協調して働くことで生命現象の随所で重要な役割を担っています。まだまだ未知な点が多いこれら核酸関連分子の機能を解明・制御するには、核酸と相互作用する化合物の創出や、ヌクレオシド・ヌクレオチド類縁体の化学合成が欠かせません。そこで私たちは、天然で見いだされる核酸の構造を基盤として、機能強化した核酸類縁体や核酸と反応する小分子を設計・化学合成する技術を強化してきました。

また、糖部の立体配座を様々なカタチに固定化した核酸分子(架橋型人工核酸:BNA)の創出はそのひとつで、核酸の構造制御がその生理活性や安定性に与える影響を精査するためにはとても重要です。これら人工核酸分子のなかには天然の核酸分子では達成できない熱的に非常に安定な核酸高次構造を形成したり、核酸分解酵素への高い耐性を示したりする分子があり、こうした性質をもつ人工核酸分子は個体での遺伝子発現制御を達成できる可能性を持つことから、核酸医薬の素材分子候補となります。現在私たちは、二重鎖核酸はもちろん、三重鎖核酸や四重鎖核酸などの構造制御を達成するために、BNAとは異なる性質を高めた新しい人工核酸分子の創出を目指しています。

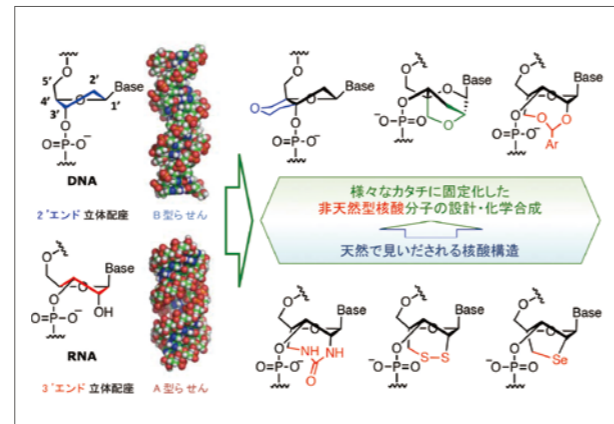


図1: 天然二重鎖核酸の構造と非天然型核酸分子の精密分子設計・化学合成

高度に機能化したオリゴヌクレオチドの創製と機能性評価:

こうして合成する人工核酸分子には、時にさらなる高機能化が必要となる場合があります。蛍光分子・脂質・アミノ酸(ペプチド)・糖鎖・その他各種小分子と複合体化はその典型例です。多くの場合で複合体化は核酸の末端や塩基部分で行いますが、私たちは多様なニーズに応えるため、リン酸ジエステル上や核酸糖部のあらゆる位置で複合体化を実施できるような化学修飾法の開発についても実施してきました。特に硫黄原子を足がかりとした官能基高選択的な修飾法は、オリゴヌクレオチド合成後の修飾法として非常に有効に機能します。また、天然には無いアジドとアルキン(炭素炭素三重結合)との環化付加反応を用いた核酸修飾法では、高速かつ高官能基選択的な修飾を達成する事ができます。

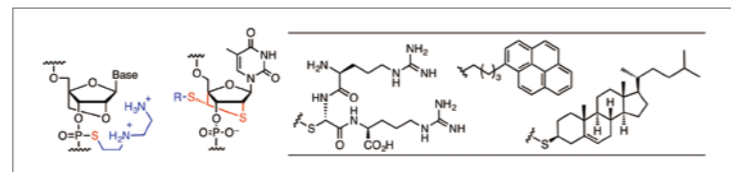


図2: オリゴヌクレオチドの高度機能化のための核酸修飾法

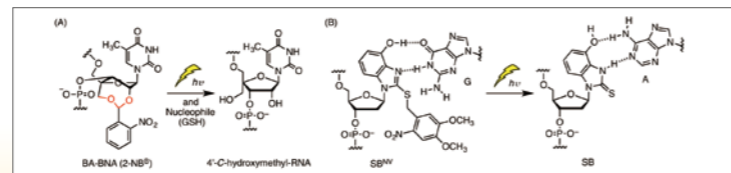


図3: 外部刺激に応答してその性質を大きく変える人工核酸の開発
(A) 光刺激をきっかけにした糖部構造の変化に伴って性質を変えるベンジリデンアセタール型人工核酸
(B) 光刺激をきっかけにした塩基構造の変化に伴って形成する塩基対が変わる人工核酸

また、光をはじめとする外部刺激に応答してその構造を変化させ、オリゴヌクレオチドの性質を大きく変化する「トリガー」機能をもつ核酸の開発も手がけてきました。これらは核酸自らが外部刺激を察知するため、周囲環境に依存した核酸の機能発現を期待できます。例えば、光刺激をきっかけにして糖部構造を変化させ、それ

に伴って核酸の極性や核酸分解酵素耐性などを変えるベンジリデンアセタール型人工核酸BA-BNAは核酸送達などの技術へ、核酸塩基の水素結合様式を変化させる人工核酸SB^{NV}は遺伝子発現を制御したい標的を外から変化させることができる新しい技術開発などへと、さまざまな未知の技術経の展開が考えられます。

損傷DNAの再現研究、認識・検出法の開発とDNAアルキル化剤の創製:

生命機能の観察・解析には、その研究対象を選択的に認識・検出する技術が必要です。例えば、酸化ストレスによるDNA損傷や一塩基変異を含む配列情報を検出する技術は、疾病の早期治療や治療方針決定の一助となります。私たちは、高変異原性の酸化損傷塩基8-ヒドロキシグアニン(8-OxoG)や一塩基変異を含む二重鎖DNAを選択的(100:1以上)に検出可能なBNAプローブを開発するとともに、核酸糖部損傷部位(25fmolのC4APやDOB)の蛍光検出プローブとしてTris誘導体が有効に機能する事を明らかにしてきました。また、損傷DNA研究の一環として、ホルミルシチジン(fC)やDOBをオリゴヌクレオチド上で発生させることの出来る技術の開発やDNAアルキル化剤の創出研究を行っています。また、共同研究により、放射性同位体で標識した人工核酸の動態解析も行ってきました。

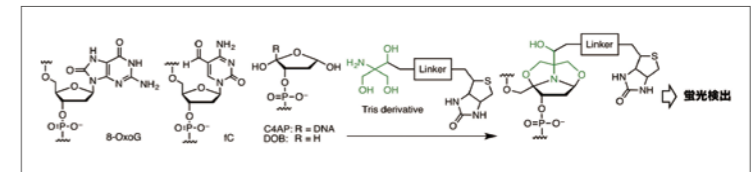


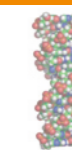
図4: オリゴヌクレオチド中の損傷部位検出法

核酸が細胞内での重要性は遺伝子発現のエピジェネティックな制御機構の解明や非翻訳RNAの理解が進むにつれて日に日に高くなっていく一方で、金属基盤上などでの利用も急速に進められ、素材としての役割も広がってきました。また、最近では新たなヒトのセカンドメッセンジャーcGAMPが発見されるなど低分子核酸(ヌクレオシド・ヌクレオチド)からも目が離せません。私たちはこれからも、こうした生命現象を中心とする幅広い分野への展開を常に意識しながら、有機化学・構造化学の視点から研究を展開していきます。

論文リスト:

- Kunihiko Morihoro, [Tetsuya Kodama](#), Shohei Mori, Satoshi Obika. Photoinduced changes in hydrogen bonding patterns of 8-thiopurine nucleobase analogues in a DNA strand. *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, in press.
- Hidefumi Mukai, Daiki Ozaki, Yilong Cui, Takeshi Kuboyama, Hiroko Yamato-Nagata, Kayo Onoe, Maiko Takahashi, Yasuhiro Wada, Takeshi Imanishi, Tetsuya Kodama, Satoshi Obika, Masaaki Suzuki, Hisashi Doi, Yasuyoshi Watanabe. Quantitative evaluation of the improvement in the pharmacokinetics of a nucleic acid drug delivery system by dynamic PET imaging with ¹⁸F-incorporated oligodeoxynucleotides. *J. Control. Release*. **2014**, 180, 92–99.
- Kunihiko Morihoro, [Tetsuya Kodama](#), Reiko Waki, Satoshi Obika. Light-triggered strand exchange reaction using the change in the hydrogen bonding pattern of a nucleobase analogue. *Chem. Sci.*, **2014**, 5(2), 744–750.
- Kunihiko Morihoro, [Tetsuya Kodama](#), Kentefu, Yoshihiro Moai, Rakesh N. Veedu, Satoshi Obika. Selenomethylene Locked Nucleic Acid Enables Reversible Hybridization in Response to Redox Changes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52(19), 5074–5078.
- Aiko Yahara, Ajaya Ram Shrestha, Tsuyoshi Yamamoto, Yoshiyuki Hari, Takashi Osawa, Masaki Yamaguchi, Masaru Nishida, [Tetsuya Kodama](#), Satoshi Obika. Amido-Bridged Nucleic Acids (AmNAs): Synthesis, Duplex Stability, Nuclease Resistance, and in Vitro Antisense Potency. *ChemBioChem*, **2012**, 13(17), 2513–2516.
- Megan Wheeler, Antoine Chardon, Astrid Goubet, Kunihiko Morihoro, Sze Yee Tsan, Stacey L. Edwards, [Tetsuya Kodama](#), Satoshi Obika and Rakesh N. Veedu. Synthesis of selenomethylene-locked nucleic acid (SeLNA)-modified oligonucleotides by polymerases. *Chem. Commun.*, **2012**, 48(89), 11020–11022.
- Yuji Kawada, [Tetsuya Kodama](#), Kazuyuki Miyashita, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika. Synthesis and evaluation of novel caged DNA alkylating agents bearing 3,4-epoxypiperidine structure. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2012**, 10(26), 5102–5108.
- S.M. Abdur Rahman, Takeshi Baba, [Tetsuya Kodama](#), Md. Ariful Islam, Satoshi Obika. Hybridizing ability and nuclease resistance profile of backbone modified cationic phosphorothioate oligonucleotides. *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, 20(13), 4098–4102.
- Kazuto Mori, [Tetsuya Kodama](#), Satoshi Obika. Design, synthesis and properties of boat-shaped glucopyranosyl nucleic acid. *Org. Lett.*, **2011**, 13(22), 6050–6053.

センターを中心に展開される研究



10. Kosuke Ramon Ito, **Tetsuya Kodama**, Futaba Makimura, Noritsugu Hosoki, Tomohisa Osaki, Ayako Orita, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika. Cleavage of oligonucleotides containing a P3'→N5' phosphoramidite linkage mediated by single-stranded oligonucleotide templates. *Molecules*, **2011**, *16*(12), 10695-10708.
11. Kunihiro Morihiro, **Tetsuya Kodama**, Satoshi Obika. Benzylidene acetal-type bridged nucleic acids: changes in properties upon cleavage of the bridge triggered by external stimuli. *Chem. Eur. J.*, **2011**, *17*(28), 7918–7926.
12. Kwan-Young Jung, **Tetsuya Kodama**, Marc M. Greenberg. Repair of the major lesion resulting from C5'-oxidation of DNA. *Biochemistry*, **2011**, *50*(28), 6273–6279.
13. Kazuto Mori, **Tetsuya Kodama**, Takeshi Baba, Satoshi Obika. Bridged nucleic acid conjugates at 6'-thiol: synthesis, hybridization properties and nuclease resistances. *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, *9*(14), 5272–5279.
14. Yoshiyuki Hari, **Tetsuya Kodama**, Takeshi Imanishi, Satoshi Obika. 2'-O,4'-C-Methyleneoxymethylene bridged nucleic acid (2',4'-BNA^{COC}). *Therapeutic Oligonucleotides: Methods and Protocols*, John Goodchild Ed., pp 31–57, Humana Press (2011).
15. Takeshi Baba, **Tetsuya Kodama**, Kazuto Mori, Takeshi Imanishi, and Satoshi Obika. A novel bridged nucleoside bearing a conformationally switchable sugar moiety in response to redox changes. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*(42), 8058-8060.
16. Kosuke Ramon Ito, **Tetsuya Kodama**, Masaharu Tomizu, Yoshinori Negoro, Ayako Orita, Tomohisa Osaki, Noritsugu Hosoki, Takaya Tanaka, Takeshi Imanishi, and Satoshi Obika. Double-stranded DNA-templated cleavage of oligonucleotides containing a P3'→N5' linkage triggered by triplex formation: the effects of chemical modifications and remarkable enhancement in reactivity. *Nucleic Acids Res.*, **2010**, *38*(20), 7332-7342.
17. Masaru Nishida, Takeshi Baba, **Tetsuya Kodama**, Aiko Yahara, Takeshi Imanishi, and Satoshi Obika. Synthesis, RNA selective hybridization and high nuclease resistance of an oligonucleotide containing novel bridged nucleic acid with cyclic urea structure. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*(29), 5283-5285.
18. Yuji Kawada, **Tetsuya Kodama**, Kazuyuki Miyashita, Takeshi Imanishi, and Satoshi Obika. Synthesis and evaluation of novel 3,4-epoxypiperidines as efficient DNA alkylating agents. *Heterocycles*, **2010**, *80*(2), 1249-1265.
19. Kunihiro Morihiro, **Tetsuya Kodama**, Masaru Nishida, Takeshi Imanishi and Satoshi Obika. Synthesis of light-responsive bridged nucleic acid and changes in affinity with complementary ssRNA. *ChemBioChem*, **2009**, *10*(11), 1784-1788.
20. **Tetsuya Kodama**, Chieko Matsuo, Hidetsugu Ori, Tetsuya Miyoshi, Satoshi Obika, Kazuyuki Miyashita, Takeshi Imanishi. Design, synthesis, and evaluation of a novel bridged nucleic acid, 2',5'-BNA^{ON}, with S-type sugar conformation fixed by N–O linkage. *Tetrahedron*, **2009**, *65*(10), 2116-2123.
21. Yasunori Mitsuoka, **Tetsuya Kodama**, Ryo Ohnishi, Yoshiyuki Hari, Takeshi Imanishi and Satoshi Obika. A Bridged Nucleic Acid, 2',4'-BNA^{COC}: Synthesis of Fully Modified Oligonucleotides Bearing Thymine, 5-Methylcytosine, Adenine and Guanine 2',4'-BNA^{COC} Monomers, and RNA-selective Nucleic Acid Recognition. *Nucleic Acids Res.*, **2009**, *37*(4), 1225-1238.
22. **Tetsuya Kodama**, Kensaku Sugaya, Takeshi Baba, Takeshi Imanishi and Satoshi Obika. Synthesis of a Novel trans-3',4'-BNA Monomer Bearing a 4,8-Dioxo-5-azabicyclo[5.3.0]decane Skeleton. *Heterocycles*, **2009**, *79*(1), 873-882.
23. **Tetsuya Kodama**, Kensaku Sugaya, Yasuki Harada, Yasunori Mitsuoka, Takeshi Imanishi and Satoshi Obika. Synthesis and Properties of 2'-Deoxy-trans-3',4'-BNA with S-type Sugar Puckering. *Heterocycles*, **2009**, *77*(2), 1209-1217.
24. Shanta Dhar, **Tetsuya Kodama**, and Marc M. Greenberg. Selective detection and quantification of oxidized abasic lesions in DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*(28), 8702-8703.

招待講演リスト:

1. 第2回岐阜構造生物学・医学・論理的創薬研究会シンポジウム(岐阜)(題目:核酸化学:核酸医薬創出に向けた新たなコンホメーション固定型人工核酸の開発)2013/3/21
2. 立命館大学・創薬基盤化学研究若手セミナー(滋賀)(題目:有機化学からみた核酸化学:設計と合成、そして基本的性質)2012/6/28
3. 第60回日本薬学会近畿支部大会 奨励賞受賞講演(大阪)(題目:外部刺激応答性架橋型人工核酸スイッチの開発)2010/10/30
4. 第33回大学分析者の会において招待講演(大阪)(題目:次世代核酸系素材の創製を目指した高度機能化人工核酸の設計と合成)2009/7/29