

平成 28 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		光でウイルス感染制御、新規治療薬の開発を目指した基礎研究
新規・継続の別		新規 ・ 継続
研究代表者	所属	北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科
	職名・氏名	教授・藤本 健造
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科
	職名・氏名	博士研究員・中村 重孝
	所属	北海道大学遺伝子病制御研究所・分子生体防御分野
	職名・氏名	教授・高岡 晃教
	所属	北海道大学遺伝子病制御研究所・分子生体防御分野
	職名・氏名	助教・亀山 武志
受け入れ教員	職名・氏名	教授・高岡 晃教
研究目的 (300 字程度)		光核酸マニピュレーション技術とは、申請者が開発した光によって DNA を切断したり繋いだりする技術で、これまで DNA 鎖を共有結合でつないだ架橋 DNA をはじめ、分岐構造を持つ DNA や三重鎖の DNA、平面シート構造の DNA など様々な新規構造を有する核酸を世界に先駆けて開発してきた。このような背景の中、申請者らはこれまで行ってきた光核酸マニピュレーション技術を用いて、光でウイルス感染症を制御する、新規核酸医薬の開発を試みた。本研究では、この技術を使ってインフルエンザウイルスやヒトパピローマウイルスなどを標的とした、これまでにないアプローチでの抗ウイルス薬開発のための基礎研究を展開したい。
研究内容・成果 (1000 字程度)		まずはじめに光核酸マニピュレーション技術を使って、遺伝子の発現制御が可能であるかを検証した。標的 RNA または DNA に対して、光核酸マニピュレーション技術を組みこんだ核酸（以降光核酸と記す）をデザインし、その合成を行った。この光核酸を HeLa 細胞や大腸菌に遺伝子導入し、光照射を行うことで、遺伝子の発現レベルが抑制されるかについて、あるいは標的 RNA に光核酸が結合するかについて検証した。その結果、複雑な立体構造をとる RNA に対しても光核酸マニピュレーション技術を用いた核酸が結合することや(論文発表 1)、その遺伝子の発現が抑制することを明らかにした。さらに、ゲノム DNA を標的とした遺伝子発現抑制も行える可能性が示唆される結果も得られた(学会発表 1,2)。これらの結果は、光核酸マニピュレーション技術を用いた遺伝子の発現制御が可能であることが示唆されるため、感染症に対しての治療薬としての可能性を探るべく、現在ウイルスに対する遺伝子の発現制御を光で行うことを考案し、その標的配列を検討している。

	また我々は、これまで高岡研究室で、光核酸マニピュレーションを用いた新しい核酸医薬の創出を試みてきた。核酸は自然免疫シグナル伝達経路を強力に活性化するリガンドであるが、この活性化を制御することは出来ない。そこで、光核酸マニピュレーションを用いて、自然免疫系が体内で活性化するような switchable なリガンドを模索してきた。これまで放射線により免疫活性化型となるリガンドの開発を行ってきたが、放射線による活性化効率が非常に悪い。ため期待されるような switchable なリガンドは創出できていない。そのような中、我々は DNA 鎖交換反応という現象を新たに見出した。これは、二本鎖 DNA の相補鎖が光によって、入れ替え可能であるという新しい技術である(論文発表 2)。この技術を用いることで、リガンドとなる核酸を、ホルダーとなる核酸にトラップさせておいて、光刺激によって DNA の相補鎖を入れ替えることによって、リガンド核酸を放出させることが可能となる。現在、この DNA 鎖交換反応を利用した、新たな switchable なリガンドをデザインし作製を行っているところである。 本研究をさらに推進することによって、効果的な抗ウイルス光オリゴヌクレオチドの開発を行い、光でウイルスの感染を制御するという、新しい治療法の提示につなげていきたい。
成果	【学会報告】 [1] 中村重孝、藤本健造、”アンチジーン法へ向けた光誘起型 Double duplex 構造の形成” 日本核酸医薬学会第 2 回年会 東京 2016.11.14-2016.11.17 [2] Yang Hung, Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto, “Photoinduced double duplex formation mediated by ultrafast DNA photo-cross-linking for antigene method” 日本化学会 第 97 春季年会 神奈川 2017.3.16-2017.3.19 【論文発表】 [1] Kenzo Fujimoto, Kei Toyosato, Shigetaka Nakamura, Takashi Sakamoto, “RNA fluorescence in situ hybridization using 3-cyanovinylcarbazole modified oligodeoxyribonucleotides as photo-cross-linkable probes” <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i>, 2016, 26, 5312-5314. (IF = 2.486) [2] Shigetaka Nakamura, Kenzo Fujimoto, “Sequence-Specific DNA photo-splitting of 3-cyanovinylcarbazole using DNA strand displacement” <i>ChemBioChem</i>, 2016, 17, 1499-1503. (IF = 3.088) 【新聞報道】