

金属錯体形成を駆動力とした

構造可変型 DNA ナノモチーフの構築

東京大学大学院理学系研究科化学専攻

竹澤 悠典

1. 研究背景と目的

DNA は、核酸塩基間の相補的な水素結合により配列特異的に会合し、二重らせんやジヤンクションなどの高次構造を形成する。近年、綿密な塩基配列設計に基づいて会合過程をプログラムすることで、複数の DNA 鎖を自己集合させ、二次元や三次元のナノ構造体を構築する研究が盛んである。本研究は、天然塩基対間の水素結合に加えて、多様な立体構造や熱力学的安定性を有する金属錯体の形成を駆動力とした、新規 DNA ナノモチーフの構築を目的としている。ターゲットとして DNA ナノ構造の重要なモチーフである DNA 三叉路分岐(3WJ)構造を選択し、分岐部分に金属錯体を導入し 3WJ の安定化や構造誘起の検討を行った。

2. 結果及び考察

3WJ は互いに相補的な塩基配列を持つ 3 本の DNA 鎖からなり、中央に分岐部分を持つ

(図 1)。分岐部分に位置するヌクレオチドに金属配位子を導入し、金属錯体形成により 3 本の鎖をクロスリンクすることで、3WJ の安定化や構造誘起・構造変換が実現できると考えた(図 2)。図 1 に矢印で示すように、ヌクレオチドのリボース部位の 2' 位が分岐の中央を向いている。そこで、配位子をヌクレオチドの 2' 位にリンカーを介して導入することとした。配位子としてビピリジン(bpy)を導入した DNA 鎖 L_1 , L_2 および L_3 を合成し、これらを一アニーリングして人工 3WJ 構造 $L_1L_2L_3$ を得た(図 2)。3WJ 構造の形成はポリアクリルアミドゲル電気泳動により確認した。

人工 3WJ 構造 $L_1L_2L_3$ に種々の金属イオンを添加し、安定性を融解実験により評価した。図 3 には Ni^{2+} イオン存在下における融解曲線を示した。 Ni^{2+} イオンの当量の増加に伴

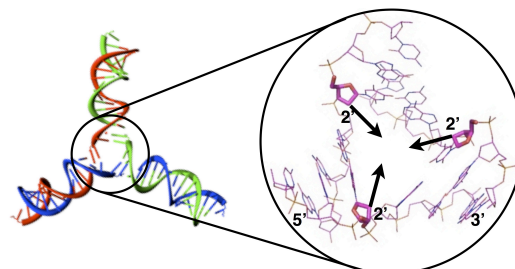
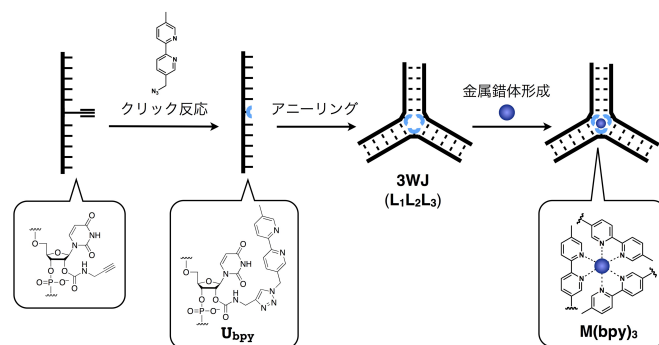


図 1 DNA 三叉路(3WJ)構造。右は結晶構造(PDB: 2ET0 より)。



L_1/S_1 5'-GAA GGA ACG XAC ACT CGC AG-3'
 L_2/S_2 5'-GTT CCA CGC XAC GTT CCT TC-3'
 L_3/S_3 5'-CTG CGA GTG XAG CGT GGA AC-3'
 L_1-L_3 : X = U_{bpy} , S_1-S_3 : X = T

図 2 金属錯体形成による人工 DNA 三叉路(3WJ)構造の安定化。
 U_{bpy} : ビピリジン(bpy)修飾ウリジン誘導体。 L_1 , L_2 , L_3 : ビピリジン修飾人工 DNA 鎖。 S_1 , S_2 , S_3 : 天然配列の DNA 鎖。

い、融解曲線は高温側に徐々にシフトし、安定性の上昇が確認された。Ni²⁺イオンを1当量加えたとき、すなわち[bpy]:[Ni²⁺] = 3:1のときに最大の安定化が見られ、融解温度の上昇(ΔT_m)は約9 °Cであった。一方、含まれるbpyの個数を0, 1, 2, 3個と変えた3WJ(**S₁S₂S₃**, **S₁S₂L₃**, **S₁L₂L₃**, **L₁L₂L₃**)についても同様の評価を行った。その結果、分岐部分に3個のbpyを含む**L₁L₂L₃**のみが顕著な安定化を示した。このことから、3WJの分岐部分でbpyとNi²⁺の3:1錯体Ni(bpy)₃²⁺が形成し、3本のDNA鎖がクロスリンクされて、3WJ全体の安定性が上昇したと考えられる。紫外可視吸収スペクトルにおいても318 nmにNi(bpy)₃²⁺錯体に帰属される吸収が現れ、さらに円二色性スペクトルからDNAのらせん性を反映して錯体のキラリティー(Λ 体, d.e. = 12%)が誘起されたことも明らかとなった(図4)。

その他の遷移金属イオンでは、Fe²⁺, Co²⁺イオンの添加によっても3WJの安定化が見られた。興味深いことに、安定化の程度はNi²⁺ ($\Delta T_m = +9$ °C) > Fe²⁺ (+5 °C) > Co²⁺ (+3 °C)の順であり、[M(bpy)₃]²⁺錯体の全生成定数 β_3 (それぞれlog $\beta_3 = 20.2, 17.2, 15.9$)と同様の傾向が見られた。これは、金属錯体の安定性に基づき金属種を選択することで、3WJ全体の熱的安定性をコントロールできることを示唆しており、DNAナノモチーフの設計指針になると考えている。

3. まとめと今後の課題

本研究では、ピピリジン(bpy)配位子を導入した人工DNA鎖を用いて三叉路分岐(3WJ)構造を構築し、Ni(bpy)₃²⁺錯体の形成により、その安定性を上昇できることを見出した(*Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 1212–1216)。DNAの塩基配列設計に加えて、金属錯体の分子設計を活用することで、DNAナノ構造のプログラミング性を向上できるものと考えている。現在、リンカーのデザインを変えたbpy修飾DNA鎖も合成し、人工3WJモチーフの構造最適化を行っており、十字型構造など他のDNA分岐構造への適用も検討している。さらに安定性の精密制御により、金属錯体形成や配位結合の組み換えをトリガーとしたDNA二重鎖や3WJ構造などの相互変換を実現し、DNAナノモチーフの動的構造変換やDNAナノマシンの構築への応用を計画している。

4. 謝辞

本研究は、東京大学大学院理学系研究科化学専攻生物無機化学研究室の塩谷光彦教授のもとで行ったものであり、塩谷教授のご指導に感謝いたします。また、実験を共に進めた研究員のJean-Louis Duprey博士をはじめ、研究室メンバーに感謝いたします。

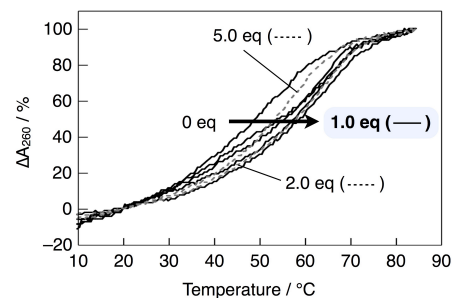


図3 人工DNA三叉路構造(L₁L₂L₃)のNi²⁺イオン存在下における融解曲線。[L₁L₂L₃] = 1.0 μM, [Ni²⁺] = 0, 0.3, 0.7, 1.0 (—), 2.0, 5.0 μM (---), 10 mM MOPS (pH 7.0), 100 mM NaCl, 0.2 °C/min.

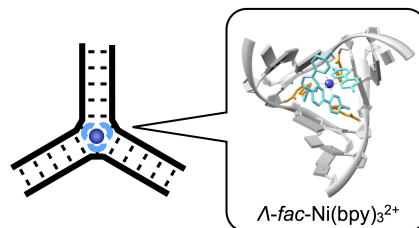


図4 DNA三叉路3WJの分岐点に形成したNi(bpy)₃²⁺錯体の推定構造。図には Λ -fac体を示