

研究テーマ

DNA切断制御を指向した光応答性金属錯体の開発

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

金属錯体は様々な機能を有しており、その一つにDNAやRNAの加水分解能がある。金属錯体のこの性質は、遺伝子操作、生体構造プローブのデザイン、新しいがん療法の開発などに応用できる可能性が期待され、薬学、バイオテクノロジーなどの分野で興味もたれ、様々な金属錯体によるDNA切断の研究が精力的に行われている。しかし、可逆的に光応答性を示すDNA切断金属錯体の報告例はない。そこで、本研究では、DNA切断に関して次のことに注目した。

1. 制限酵素 *Bgl*I などによるDNAのリン酸エステルの加水分解過程では、複数の金属イオンが関与していることが明らかになっており、2つの金属サイトが同時に1つのリン酸エステルに作用して、加水分解的にDNAを切断する。
2. 似た構造の配位子からなる金属錯体では、複核金属錯体ほうが単核金属錯体よりもDNA切断活性が高い。

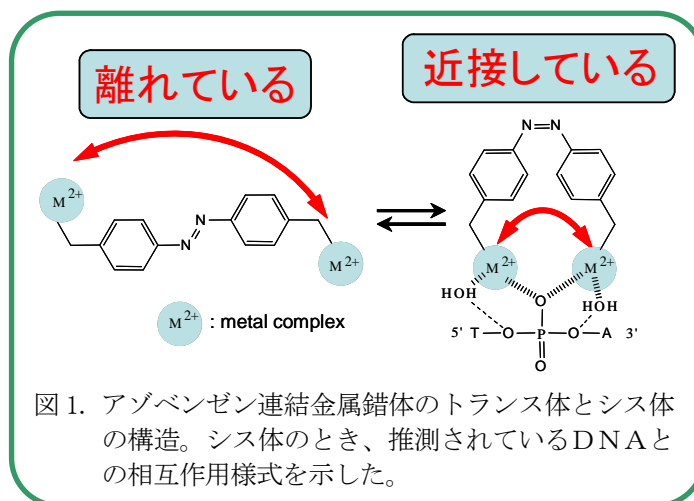
これらのことより、2つの金属サイト間距離を光で制御することによって、金属錯体のDNA切断活性を光制御することを考えた。

2. 方法

DNA切断活性が報告されている2つの金属錯体をcis-trans異性化するアゾベンゼンで連結した。このとき、トランス体では金属間距離が比較的大きく2つの金属サイトが単核的にDNAと作用するのにに対して、シス体では2つの金属が接近し複核錯体として作用するように分子設計した(図1)。

基本骨格となるアゾベンゼン誘導体として4,4'-ビス(クロロ)ア

ゾベンゼンを合成した。アゾベンゼン誘導体にCysGly銅錯体または1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) 亜鉛錯体を連結した化合物を合成し、吸収、ESI-mass、NMRスペクトルなどによりそれらの化合物を同定した。これらの化合物のアゾベンゼン部位のcis-trans異性化により金属間距離を光制御し、DNA切断活性を調べた。アゾベンゼン連結金属錯体のDNA切断活性は、pUC19 plasmid DNAにトランス体およびシス体のアゾベンゼン連結金属錯体を共存させ、アガロースゲル電気泳動バンドにより調べた。



3. 結果 研究成果

アゾベンゼンの誘導体に CysGly銅錯体を連結した。アゾベンゼン連結CysGly銅錯体のトランス体を超らせん型DNAと60分間共存させてもDNAはほとんど切断されなかったが、355 nmの照射によりアゾベンゼン連結銅錯体をシス体に変換すると、超らせん型DNA共存開始10分後からDNAが切断され、損傷型DNAの生成が確認された。アゾベンゼン連結銅錯体は430 nmの照射により大部分シス体からトランス体に変換した。以上より、シス体はトランス体よりもDNA切断活性が高く、DNA切断活性が光制御できた。また、嫌気下でアゾベンゼン連結銅錯体のシス体によるDNA切断が同程度に観測されたため、加水分解的にDNA切断が起こっていることが示唆された。

しかし、銅錯体によるDNA切断では酸化的切断が起こり、DNAが修復不可能となる

可能性がある。そこで、比較的安定なマクロサイクルcyclenの亜鉛錯体をアゾベンゼンで連結した光応答性化合物を合成した。亜鉛錯体の形成は亜鉛イオンの滴定によるNMRスペクトル変化により確認した。得られたトランス体のアゾベンゼン連結金属錯体に355 nmのレーザー光を照射し、シス体への変換を吸収およびNMRスペクトルにより確認した(図2)。同様に、照射により生じたシス体に430 nmのレーザー光を照射し再びトランス体に変換させた。アゾベンゼン連結亜鉛錯体のトランス体またはシス体をpUC19 plasmid DNAと2~8時間共存させても、超らせん構造からの切断は観測されず、電気泳動のバンドがブロード化した。電気泳動のバンドがブロード化した原因は、Zn(cyclen)とデオキシチミンの会合定数が 10^5 M^{-1} と大きく(E. Kimura *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 3848-3859)、Zn(cyclen)とチミンが強く結合したためと解釈した。

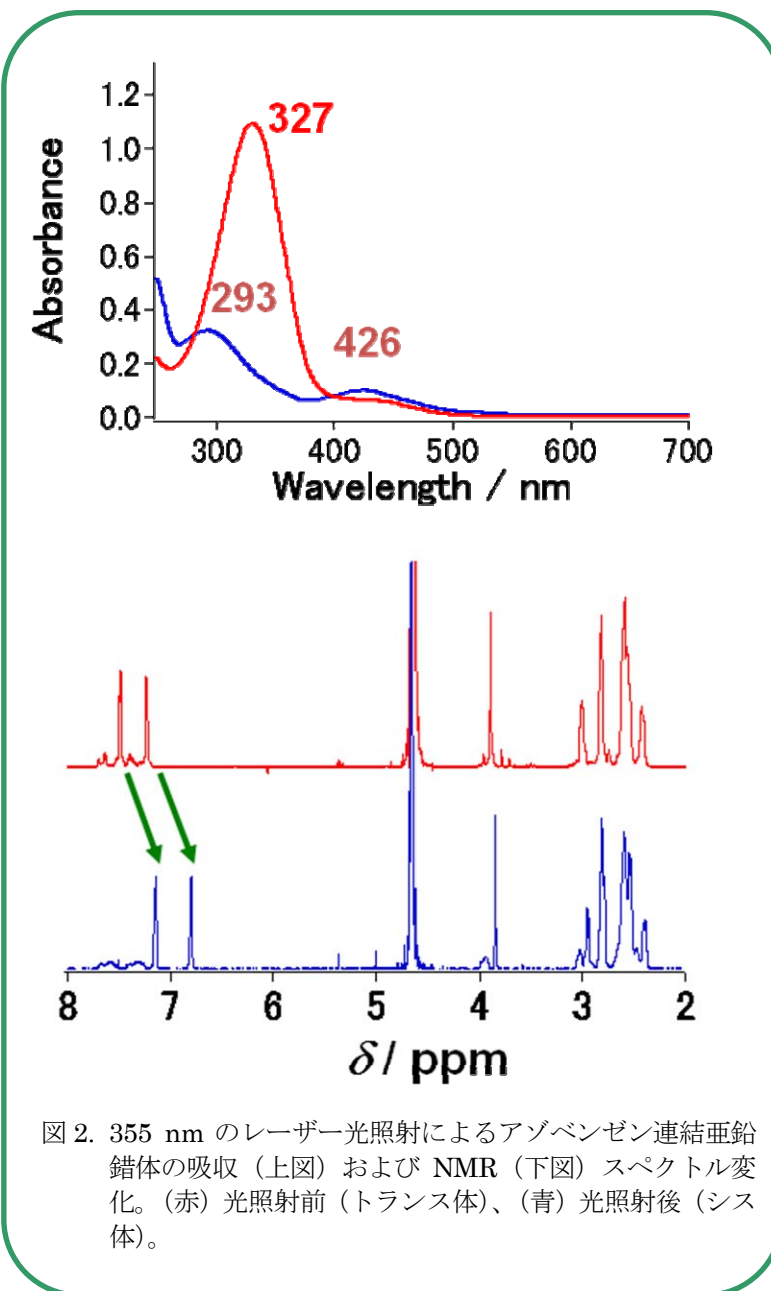


図 2. 355 nm のレーザー照射によるアゾベンゼン連結亜鉛錯体の吸収 (上図) および NMR (下図) スペクトル変化。(赤) 照射前 (トランス体)、(青) 照射後 (シス体)。

4. 考察 まとめ

DNA切断能を有する金属錯体をアゾベンゼンで連結し、活性中心金属間の距離を光制御することにより、DNA切断活性を可逆的に制御できた。しかし、アゾベンゼン連結錯体のDNA切断能を向上させるなど、より有効な光応答性DNA切断錯体を作製するためには、配位子や金属錯体のさらなる検討が必要である。

5. 発表論文、参考文献

1. H. Prakash, A. Shodai, H. Yasui, H. Sakurai, S. Hirota, *Inorg. Chem.*, **47**, 5045-5047 (2008).