

金属イオンで結合する人工DNA

塩谷光彦

東京大学大学院理学系研究科

DNAは、核酸塩基が水素結合でペアを作ることにより二重らせん構造を保っている。水素結合が切れたりつながったりするおかげで、DNAの複製やタンパク質への翻訳が起こる。この水素結合をほかの結合で置き換え、新たな機能をもったDNAを作り出す試みを紹介する。

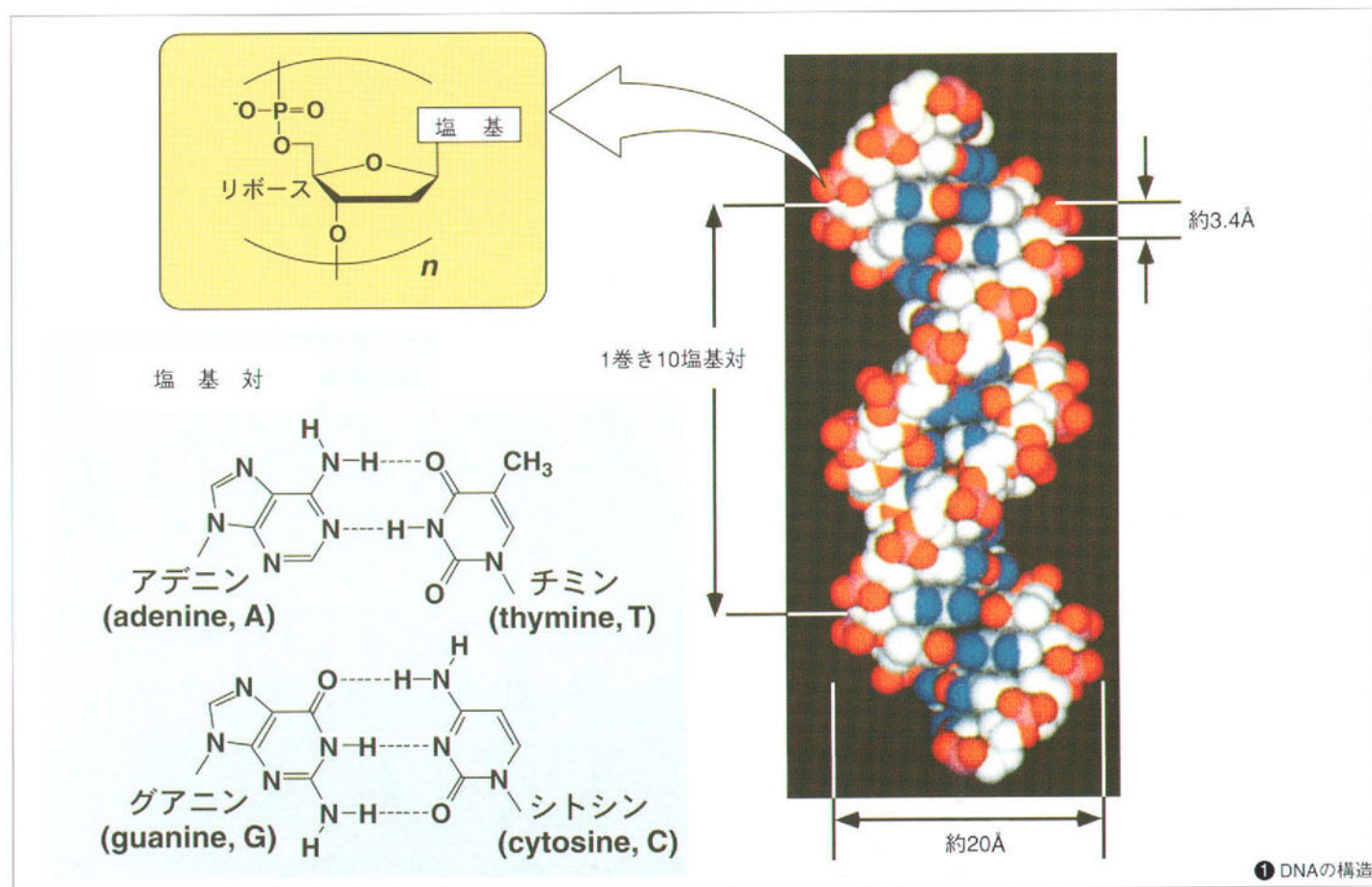
はじめに

先人の英知と努力により、生命の営みが少しずつではあるが化学の言葉で記述されるようになり、また新しい分子を合成するためのさまざまな技術や理論が成熟しつつある今、生命を「ものづくり」という視点からあらためて捉え直すことは大変価値がある。筆者

らは、これまでに明らかにされた、あるいはこれから明らかにされうる生命のしくみに関する知見の中に、新しい「ものづくり」の基本原則が豊富に内在していることを期待し、生命を発想の原点とする新しい機能性分子の構築を目指している。

生体内では、核酸、タンパク質、糖類をはじめとする数万種類もの生体分子が協調

的に働き、「生きている状態」を作り出している。なかでもDNA (deoxyribonucleic acid) は、物質と情報の両面において生命活動の中心的役割を果たしており、最も高次の機能をもった分子と言ってよい。1953年にワトソンとクリックにより遺伝子DNAのらせん構造が発見されてから、まだ半世紀も経っていないが、ヒト細胞に含まれる遺伝コードすべて



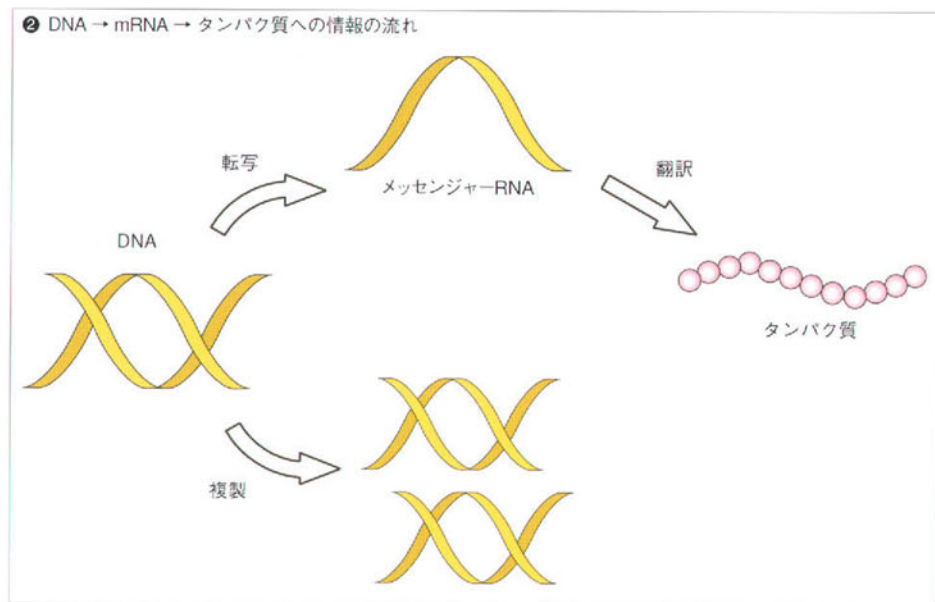
① DNAの構造

を解読しようという「ヒトゲノム計画」も最終段階にきており、ゲノムの全貌がほぼ明らかになった。このような状況の中で、DNAに関する分子科学的な研究が急速に展開されている。

DNAの主要骨格は、炭素、水素、酸素、窒素、リンの5種類の元素から成る。対イオンとしてアルカリ金属あるいはアルカリ土類金属イオンが結合するものの、主要骨格自体は金属イオンを含まない。筆者の研究室では、周期表のあらゆる元素の特性に注目し、天然DNAの主要骨格には元来含まれていない元素や結合を積極的に組み込み、新しい構造・機能の創製を行っている。ここでは、研究に至った経緯、現状、今後の展開について述べるが、その前にまず、DNAはどのような分子構造をもち、生体内でどのような役割を果たしているのか、原子・分子レベルで眺めてみることにしよう。

DNAはどのような分子構造をしているか

DNAの基本構造は、ワトソンとクリックが最初に提唱したように2本の鎖から成る右巻き二重らせんである(●右)。この均整のとれた美しい分子構造から、きわめて高次で精緻な機能が生まれる。この2本の鎖をほどいてそれぞれの鎖を眺めてみると、4種類の核酸塩基〔アデニン(adenine, A)、チミン(thymine, T)、グアニン(guanine, G)、シトシン(cytosine, C)]をもつヌクレオシドが、リン酸ジエス



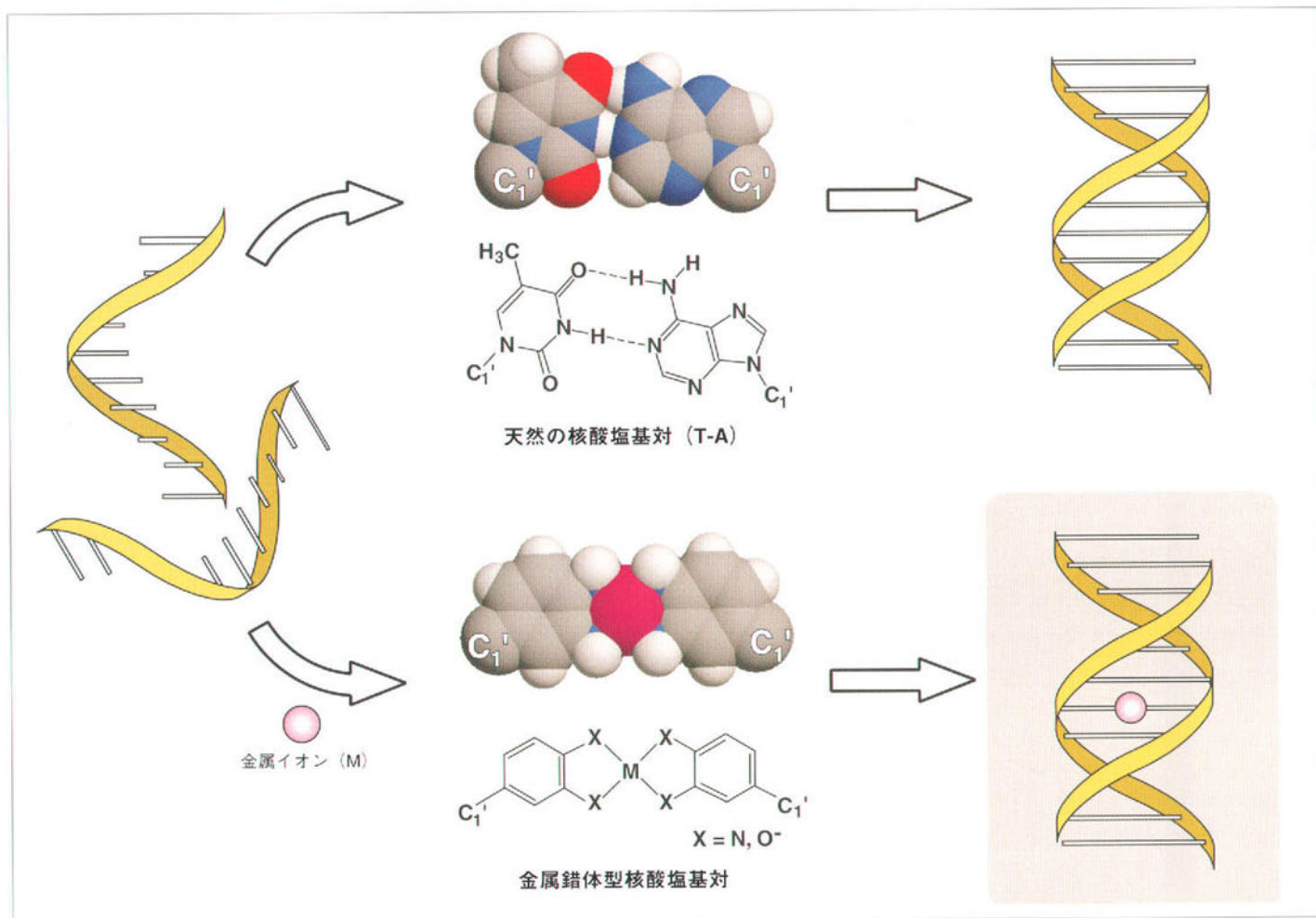
テル結合により同じ向きにつながってできていることがわかる(●左)。

通常、この2本(3本、4本のこともある)の鎖が水中で絡まり合うわけだが、そのとき、まわりの水によくなじむリン酸ジエステル部分は外側を向き、一方、水になじみにくい疎水性の核酸塩基は、水との接触をできるだけ避けるように積み重なり内側に集まる。簡単に言えば、水と油の関係が、2本の鎖を寄り添わせるドライビング・フォースになる。そしてその際、核酸塩基部分の相補的な水素結合パターンにより、2種類の塩基対(A-T, G-C)が形成される。鎖長が長く、双方の配列の相補性が高いほど、速やかに安定な二重らせんが作られる。この相補的な塩基対こそが情報

伝達の基本プロセスとなるのである。

DNA上の情報はどのように伝達されるか

DNAは、自分自身を複製するための鋳型としての働きと、タンパク質を作るための情報を与える働きをもっているが、これらの過程でDNAに書かれた分子情報はどのように伝わるのだろうか。DNAは、細胞が分裂するたびにDNAポリメラーゼによって(すなわちタンパク質の仲介によって)忠実に(99.99%程度の確率で)複製される(●下)。一方、タンパク質は、DNA上の遺伝子(はっきり決まった範囲に暗号化して書かれた設計図)にしたがって組み立てられる。このように、DNAとタンパク質は相互依存している。ただし、タンパク質の設計情報はDNA



③ 金属イオンを介する核酸塩基対：新しいDNAアルファベット
 C_{1'} はリボースの炭素。天然のヌクレオシドではこの炭素に核酸塩基の窒素が結合しているが、人工ヌクレオシドではこの炭素に核酸塩基の炭素が結合している (C-ヌクレオシド)。

からまず、タンパク質合成への橋渡し役をするメッセンジャーRNA (mRNA) にコピーされる。そして、この分子がタンパク質を作るための鋳型となる (②上)。

ここで大変興味深いのは、DNA、RNA、タンパク質はいずれもポリマー (比較的短い場合はオリゴマー) と呼ばれる鎖状化合物で、多数の小さなモノマーが結合してできていることだ。私たちがお互いにコミュニケーションできるのは、アルファベットがあり、それを使って単語や文章を作れるからだ。それと同じように、生体分子の間でもアルファベットに相当する分子が、情報伝達のかなめになっている。DNAの場合、前述した4種類のモノマー (A, T, G, C) がアルファベットに当たる。これらがどれも分子量300程度の小分子であることは、生命の秘密がこのレベルの化学

的構成の中にあることを示している。遺伝子に書き込まれている暗号、すなわちタンパク質中の各アミノ酸を指定している言語では、DNA上の一続きの3つのアルファベット (トリプレット) がいわば単語に当たる。ここでは、DNAのトリプレット (分子量1000程度) が符号となり、1つのアミノ酸と対応しているのだ。そして、このトリプレットの配列が、タンパク質のアミノ酸の配列、すなわち別の言語に翻訳される。

これらのプロセスにおいてもっとも重要なステップは、立体化学的に相補的な2本のDNA鎖が、非共有結合的相互作用によって適度に安定な会合体を可逆的に形成するところである。筆者らは、この水素結合の相補性、安定性、可逆性が天然DNAの機能を支えていることに着目し、水素結合を異なる結合

様式に置き換えれば、新しいユニークなDNAの構造や機能をデザインできるだろうと考えた。

結合様式の改変で生まれる機能

筆者らの研究室は、水素結合の代わりに、金属イオンを使って塩基を結合させた人工DNAのデザインと合成を行っている (③)。この人工DNAでは、塩基を、金属と結合する「手」(図中ではX) をもった化合物 (配位子) に変えてある。これが両側から金属イオンをはさむように結合することで、塩基が対を作り、2本のDNAが結合するわけだ (金属イオンと配位子が結合したものを錯体と呼ぶため、この塩基対を金属錯体型核酸塩基対と名付けた)。この人工DNAをどのように設計し、合成するかはあとで述べることにして、水素結合をこのような金属錯体型結合に変

えると、どんなことが期待されるかを考えてみよう。

まず挙げられるのは、従来のDNAがもつ機能の幅を広げる効果である。天然DNAの水素結合の一部を金属錯体型結合に変えれば、DNAのほどこ方をコントロールできる可能性がある。また、天然のDNAには2種類のペアしかないが、金属錯体型結合による第3、第4の塩基ペアを加えれば、DNAが担う情報の量を増やすことも可能だろう。次に考えられるのは、金属イオン特有の機能がDNAに加わることである。金属イオンを組み込むと、電子やエネルギーを可逆的にやりとりさせたり、光物性、磁性、電子物性をもたせたりすることができる。例えば、すべての塩基対を金属錯体型に変えた場合には二重らせんの中に1本の金属線が通ることになり、分子レベルの電線ができるかもしれない。

このような将来が期待できる基本には、金属錯体が多様性に富むという特徴がある。金属イオンには多くの種類があり、配位子にも多くの種類がある。両者の組み合わせは限りなく多い。さらに、金属イオンと配位子の結合は、それぞれ独特の幾何配置をとる。目的に合った金属錯体型塩基対がその中から見つかる可能性は高いはずだ。

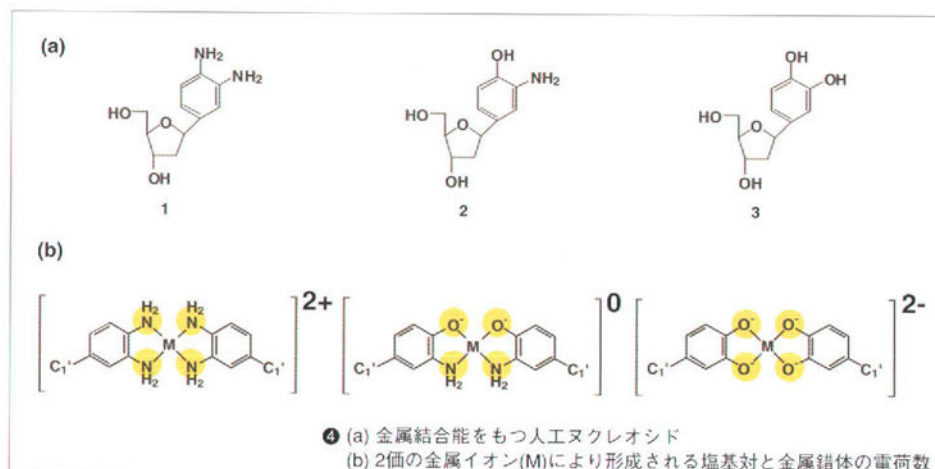
このように、水素結合の一部または全部を金属錯体型結合に変えることにより、天然のDNAとはまったく異なる

構造と機能をもつ人工DNAができると考えられる。これまでも塩基の種類を増やす試みはいくつも行われてきたが、筆者の知る限りでは、水素結合部分のデザインを変えたものがほとんどであり、生物学的な活用がおもな目的であった。筆者らの人工DNAは、塩基対の中に金属原子が含まれているため、生物学ばかりでなく機能材料や情報科学など幅広い展開が可能である。具体的には、電子のやりとりの場、反応活性中心、演算素子、外部情報応答部位などとして利用することもできると期待している。

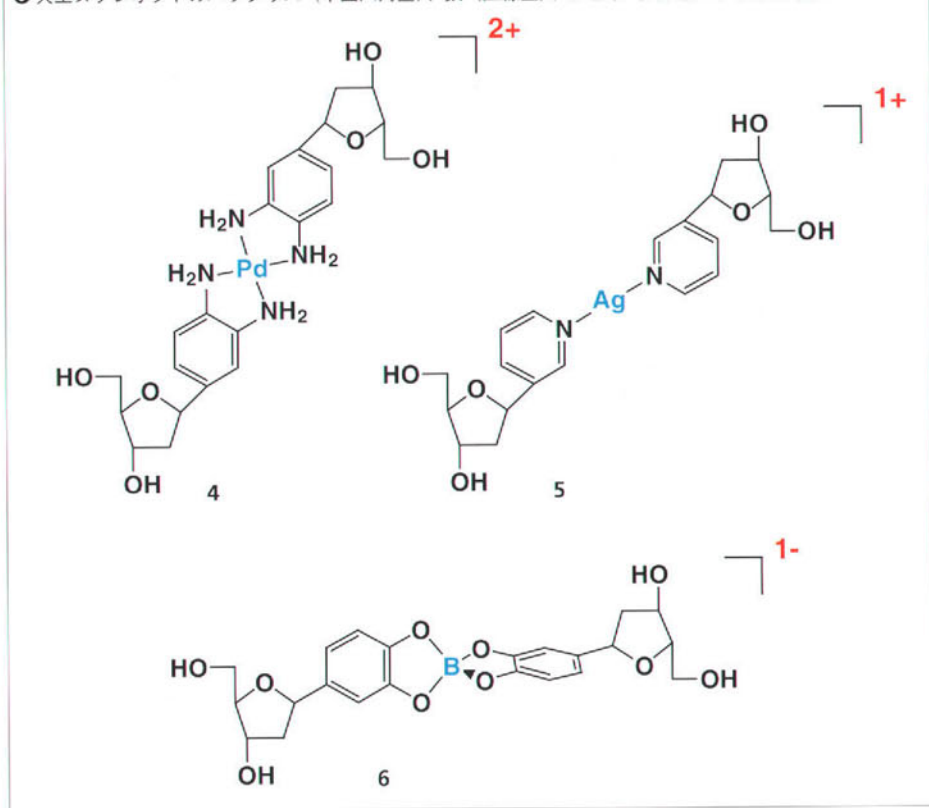
新しいアルファベットの作り方

では、このような人工DNAのアルファベットとなるモノマー（ヌクレオシド）はどのような戦略で作ったらいだろうか。金属錯体型核酸塩基対は、金属

との結合部位を2個もつ配位子が金属イオンをはさみ込んだ構造であることはすでに述べた(●)。しかし、天然DNAの一部に組み込んだり、種々の物性に基づく機能をもたせたりすることを考えれば、単に結合を作るだけでは不十分であり、精密な設計が必要となる。配位子部分の設計で留意した点は、(1) 金属イオンと平面四配位型の錯体を作ったときに、そのサイズやDNA骨格との位置関係が天然の塩基対とあまり変わらず、天然の核酸塩基のように二重らせんにフィットする立体構造をもつこと、(2) 材料科学などのさまざまな領域で活用できるように、化学的により安定な構造(cヌクレオシド)にすること、(3) 金属イオンと錯体を作ったときの塩基対の電荷数をコントロールできるようにすること、などである。



⑤ 人工ヌクレオシドのパラジウム (平面四角型)、銀 (直線型)、ホウ素 (四面体型) 錯体の構造



最初に、金属イオンと四配位型2:1錯体を形成することが可能なフェニレンジアミン (1)、アミノフェノール (2)、カテコール (3) を導入した3種のβ-C-ヌクレオシドを設計した (4上)。ここで金属イオンを導入する際に、金属イオンが正電荷をもつことに留意しなければならない。金属錯体が形成されたときに、金属イオンはほぼDNAのらせん軸上にくるため、とくに複数の金属錯体が隣接するときには、電荷の反発が起こることが考えられる。そのため、配位子の電荷を変えることにより、塩基対全体の電荷数をコントロールできるようにした。すなわち、2価の金属イオンを用いたときの塩基対の電荷数は、フェニレンジアミン型 (1) ではプラス2、アミノフェノール型 (2) ではゼロ、カテコール型 (3) ではマイナス2となる (4下)。これらの人工ヌクレオシドは化学合成の手法を駆使して合成したが、そのルートはかなり専門的になるので詳細については論文を参照していただきたい。

⑤ には、これまでに核磁気共鳴スペクトルや質量分析により構造を確認し

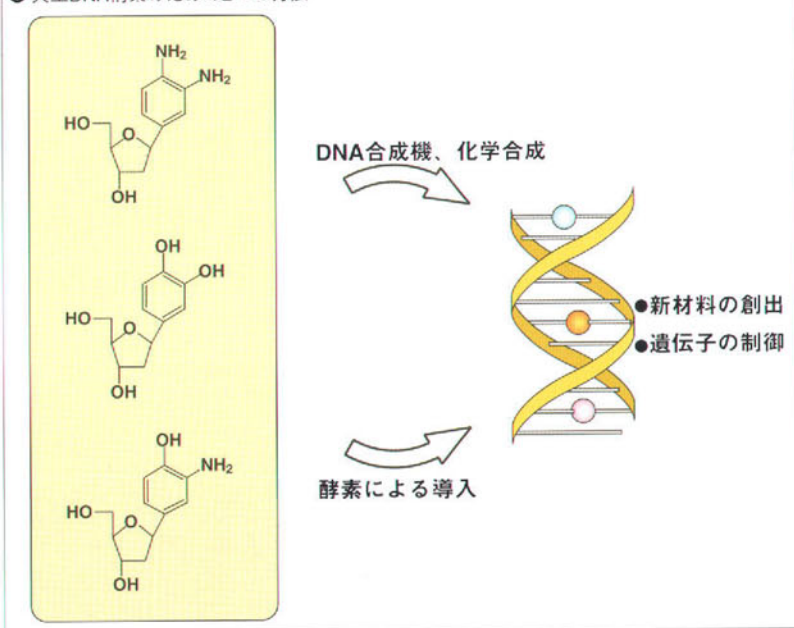
た、金属錯体型核酸塩基対をいくつか示した。(4) はフェニレンジアミン型ヌクレオシド (1) のパラジウム錯体 (平面四角型)、(5) はピリジン型ヌクレオシドの銀錯体 (直線型)、(6) はカテコール型ヌクレオシド (3) のホウ素錯体 (四面体型) である。これらは、溶液中で安定に2:1

錯体を作った、人工物として最初の金属錯体型核酸塩基対である。

人工DNAの構築

天然型の核酸塩基からDNAを作る技術は確立されている。1つはDNA自動合成機を用いる方法であり、もう1つは鋳型DNAから相補的なDNAを合成できる酵素 (DNAポリメラーゼ) を使う方法である。前者は、長さに制限はあるものの塩基の配列を任意に設定できる。上述した人工のアルファベットからDNAを作るには、これらの合成ルートに参入できるように化学構造をもつモノマーを用意すればよい。DNAは本来、直線状や

⑥ 人工DNA構築のための2つの方法





塩谷光彦（しおのや・みつひこ）
高次の機能をもつ分子や分子システムを構築するための新しい基本原理を求め、「生命」を支える生体分子やそれらが形作る生体分子システムを発想の原点として「ものづくり」に取り組んでいる。とくに、生命情報のアルファベットとも言えるDNAの塩基対に着目し、新しいアルファベットの構築を模索してきた。

環状の2本鎖ばかりでなく、多重鎖、ヘアピン、左巻きらせん、交差構造などのさまざまな立体構造を取りうるし、すでに述べたように金属錯体は非常に多様である。金属錯体をDNAに組み込むことにより作られる人工DNAのバリエーションはきわめて多い。

筆者らは現在、金属錯体型結合を所望の位置に入れた人工DNAの合成に向かって、上述の2通りのアプローチを検討している。これまでに、DNA自動合成機による合成法や通常の有機合成法により、天然DNAの中央に人工ヌクレオシドを導入することに成功した(●上)。具体的には、T(チミン)が20個つながった中央に人工ヌクレオシド(アミノフェノール型またはカテコール型)を入れたものと、A(アデニン)が20個つながった中央に入れたものである。TとAは塩基対を作るので、この2本の人工DNAは金属イオンの存在下で相補的に2本鎖DNAを形成することが期待される。現在、さまざまな金属イオンの効果について調べている。

一方、DNAポリメラーゼを用いて、人工ヌクレオシドを天然DNAに導入することも試みている(●下)。DNAポリメラーゼは、鋳型に対して相補的な塩基を順次結合させていくので、相補的な塩基の代わりに人工のアルファベッ

トを取り込ませればよい。現在、カテコール型ヌクレオシドをDNAポリメラーゼの基質となるように化学修飾し、国立遺伝研の石濱グループとの共同研究で、これをDNAポリメラーゼにより天然DNAに導入しようと検討している。

DNAポリメラーゼを使って人工モノマーを天然DNAに取り込むというアプローチは、人工DNAを構築するというだけでなく、以下に述べるように示唆に富んでいる。人間のDNAの塩基対は約30億もあり、複製の際に、非常に低い確率ではあるがミスコピーが起きてしまう。これにより細胞の設計図が変わってしまい、異種のタンパク質を生産する可能性もあるが、一方では、この不完全さが、生物進化の過程である「種の最適化」を進めているとも言えるのである。

これに関連して、Koolらが最近、ピレンと水素原子を塩基対と設定したDNA複製実験を行い、DNAポリメラーゼが問題なくそれをコピーできることを明らかにした。DNAの塩基対を複製する際に、塩基対に水素結合は必要ないという非常に興味深い結果である。この発見は、遺伝子のアルファベットを拡張する意味で画期的である。

おわりに

これまで、生命に関連した化学研究の多くは還元的な方向で進められてきた。しかし今後は、ゲノム解析の進展を受け、人工DNAや人工タンパク質に代表されるような、生命現象を演繹的に再構築するアプローチも増えてくるであろう。このようなサイエンスは、医薬学分野での利用はもちろんのこと、材料科学の分野、あるいは情報科学の分野などでの利用も考えられる。DNAの相補的会合と生化学的手法を組み合わせた、SeemanらのDNAを用いた三次元分子構築、AdlemanらのDNAコンピュータの例は、これらの方向に沿った大変興味深いものである。分子デザインは、天然分子の構造を探り、まねる段階から、今や自ら創造する段階に入りつつある。

なお、ここで述べた研究の一部は、筆者が総研大機能分子科学専攻/分子科学研究所在籍時の平成10年度に研究代表者、東大に移ってからの平成11~12年度は研究分担者として行った共同研究「人工DNAを用いる遺伝子発現制御と機能分子構築」(平成11~12年度の研究代表者は分子生物機構論専攻 諸橋憲一郎)による。

(編集担当 青山聖子)

[文献]

- ・ J. D. Watson & F. Crick, "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid," *Nature* 171, 737 (1953).
- ・ J. D. Watson, N. H. Hopkins, J. W. Roberts, J. A. Steitz & A. M. Weiner, 「遺伝子の分子生物学(上)・(下)」(松原謙一、中村桂子、三浦謙一郎 監訳)、トッパン(1990).
- ・ M. Shiono & K. Tanaka, "Synthetic Incorporation of Metal Complexes into Nucleic Acids and Peptides Directed toward Functionalized Molecules," *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 73, 1945 (2000).
- ・ N. C. Seeman, "Nucleic Acid Nanostructures and Topology," *Angew. Chem., Int. Ed. Eng.* 37, 3220 (1998).
- ・ L. M. Adleman, 「DNAコンピュータで問題を解く」(萩谷昌己 訳)、『日経サイエンス』11月号p. 20 (1998).