

## 新規 G4 リガンドスクリーニングを用いた構造選択的 G4 リガンド 開発

○橋本佳樹<sup>1</sup>・取井猛流<sup>1</sup>・木下菜月<sup>1</sup>・川内敬子<sup>1</sup>・建石寿枝<sup>2</sup>・杉本直己<sup>1,2</sup>・三好大輔<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>甲南大 FIRST、<sup>2</sup>甲南大 FIBER)

**Development of Structural Selective G-Quadruplex Ligand with Novel Ligand Screening** (Graduate School of Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology, Konan University<sup>1</sup>, Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research, Konan University<sup>2</sup>) HASHIMOTO, Yoshiaki<sup>1</sup>; TORII, Takeru<sup>1</sup>; KINOSHITA, Natsuki<sup>1</sup>; KAWAUCHI, Keiko<sup>1</sup>; TATEISHI-KARIMATA, Hisae<sup>2</sup>; SUGIMOTO, Naoki<sup>1, 2</sup>; MIYOSHI, Daisuke<sup>1</sup>

グアニンに富んだ核酸配列はグアニン四重らせん構造 (G4) を形成することが可能である。G4 はテロメアやがん関連遺伝子のプロモーター領域・mRNA の 5'-UTR 領域に局在し、テロメア伸長抑制や遺伝子の発現調節など、様々な生物学的プロセスに関与する<sup>1)</sup>。そのため、G4 は新規がん治療薬の標的として注目されている。さらに G4 の生物学的な意義を解明するために、G4 リガンドを用いた細胞内 G4 のイメージングも近年注目されている。これらのような目的で G4 リガンドの細胞内応用が盛んに試みられている。G4 リガンドの細胞内応用にあって、細胞内の核酸存在環境に注目すると、細胞内ではゲノム DNA の大部分が二重らせん構造を形成し、塩基数にして  $6000 \times 10^6$  塩基存在する。一方で G4 はゲノム上に 70 万ヶ所の形成可能配列が存在し、塩基数に換算すると約  $14 \times 10^6$  塩基である<sup>2)</sup>。このように、細胞内では G4 と比較して大過剰の二重らせん構造が存在する。そのため、細胞内で応用する G4 リガンドには高い構造選択性が要求される。しかしながら、これまでに高い構造選択性を有する G4 リガンドはほとんど報告されていない。その原因として、構造選択的 G4 リガンドを取得するためのハイスループットスクリーニングシステムがいまだに開発されていないことや、構造選択性をもたらす G4 リガンドの分子骨格が明らかにされていないことが挙げられる。

そこで本研究では、G4 構造選択的な蛍光プローブである Thioflavin T (ThT)<sup>3)</sup>を用いたスクリーニングシステムである ThT-Displacement assay (TD assay) を構築した。本手法は細胞内の核酸環境を模倣した過剰二重らせん構造 DNA 存在下で実施可能なハイスループットスクリーニングシステムである。本手法によって、構造選択的 G4 リガンド候補を取得し、転写活性や細胞増殖に及ぼす抑制効果を検討した。さらに取得した候補化合物の誘導体を用い、G4 に対する結合親和性を検討することで構造選択性に重要である構造因子を明らかにした。発表では取得した構造選択的 G4 リガンド群とその物性についても報告する。

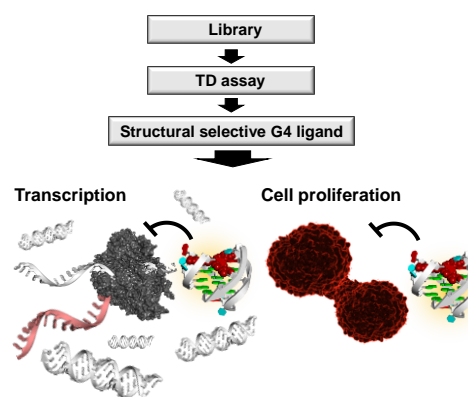


Fig. Schematic illustration of structural selective G4 ligand development.

- 1) D. Rhodes, *et al.*, *Nucleic. Acid. Res.* **43**, 8627-8637 (2015).
- 2) V. S. Chambers, *et al.*, *Nat. Biotechnol.* **33**, 877-881 (2015).
- 3) V. Gabelica, *et al.*, *Biochemistry* **52**, 5620-5628 (2013).