

CURRICULUM VITAE

Name: Genichiro Tsuji (辻 厳一郎)

Address in the US: 8509 (Berwyn Heights), College Park, MD 20740

Place and Data of Birth: O-ita, Japan, Feb. 12, 1986 (本籍:大分県玖珠郡九重町大字野上763番地)

Nationality: Japan

E-mail: gtsuji@umd.edu

ps208052@gmail.com

Educations:

- 2014-Present** #091 Chemistry & Biochemistry Building
University of Maryland, College Park, MD20742, US
Major Field: Organic Chemistry, Nucleic Acid Chemistry
- 2013-2014 東北大学多元物質研究所(IMRAM) (永次研究室)、宮城県仙台市青葉区片平2-1-1
Major Field: Organic Chemistry, Nucleic Acid Chemistry
- 2009-2013 九州大学大学院薬学府創薬科学科 (佐々木研究室)、福岡県福岡市東区馬出3-1-1
Graduate School, Kyushu University, Japan
Major Field: Organic Chemistry, Nucleic Acid Chemistry
- 2006-2009 徳島文理大学香川薬学部創薬科学科、香川県さぬき市志度1314-1
Major Field: Organic Chemistry, Vitamin D

Work Experience:

- 2014 - Present Pos-doc researcher, University of Maryland, College Park
- 2013 - 2014 Pos-doc researcher, Tohoku University
- 2012 - 2013 Research Assistant, Kyushu University
- 2009 - 2012 Teaching Assistant, Kyushu University, CREST

Memberships of Academic Societies:

The Pharmaceutical Society of Japan

Major Research Interests:

- >Development of functional molecules that have specific recognition of and reaction to the DNA.
- >The higher structure of nucleic acids and its function.

研究業績リスト

(1) 学術雑誌等（紀要・論文集等も含む）に発表した論文

Doi, I., Tsuji, G., Kawakami, K., Nakagawa, O., Taniguchi, Y., Sasaki, S., The spermine-bisaryl conjugate as a potent inducer of B- to Z-DNA transition, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 11993-11999.

Tsuji, G., Kawakami, K., Sasaki, S., Enantioselective binding of chiral 1,14-dimethyl[5]helicene-spermine ligands with B- and Z-DNA, *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, *21*, 6063-6068.

Sato, N., Tsuji, G., Sasaki, Y., Usami, A., Moki, T., Onizuka, K., Yamada, K., Nagatsugi, F., A new strategy for site-specific alkylation of DNA using oligonucleotides containing an abasic site and alkylating probes, *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 14885-14888.

(2) 学術雑誌等又は商業誌における解説、総説

なし

(3) 国際会議における発表

1. ○Tsuji, G., Doi, I., Kawakami, K., Sasaki, S., Development of the diaryl-spermine conjugate as an effective B-Z inducer, *Pacificchem 2010*, *12*, 153-4P 122, Waikiki, December 16, 2010, **oral**.

2. ○Tsuji, G., Sato, N., Moki, T., Nagatsugi, F., Development of the diaryl-spermine conjugate as an effective B-Z inducer, *Nucleic Acids Symposium 2013*, Yokohama, November 13, 2013, **oral**. 10-14

(4) 国内学会・シンポジウム等における発表

口頭発表（査読なし）

1. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴、B→Z-DNA 構造遷移を誘起するビスアリアル化合物の開発、日本薬学会第 130 年会、福岡、2010.03.

2. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴、B 型 DNA から Z 型 DNA への構造変換を誘起するビスアリアル化合物の開発、第 26 回日本薬学会九州支部大会、福岡、2010.12.

3. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴、B→Z-DNA 構造遷移を誘起するビスアリアル化合物の開発、日本薬学会第 131 年会、静岡、2011.03.

4. ○辻巖一郎、川上京子、佐々木茂貴、B→Z-DNA 構造遷移を誘起する新規化合物の開発、第 5 回バイオ関連化学シンポジウム、つくば、2011.09

5. ○辻巖一郎、川上京子、佐々木茂貴, 光応答性リガンドによる DNA 2 本鎖キラリティーの制御, 第 28 回日本薬学会九州支部大会, 福岡, 2011.12.
6. ○辻巖一郎、佐々木茂貴, B-Z 遷移能を有するキラルビスアリーールリガンドの開発, 日本薬学会第 132 年会, 北海道, 2012.03.
7. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴, 光照射により B-Z 誘起能を制御する低分子化合物の開発, 日本ケミカルバイオロジー学会 第 7 回年会, 東京, 2012.06. O-32

ポスター発表 (査読なし)

1. ○辻巖一郎、川上京子、佐々木茂貴, B→Z-DNA 構造遷移を誘起する新規化合物の開発, 第 24 回生体機能関連化学シンポジウム, 福岡, 2009.09
2. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴, B-Z 遷移能を有する新規ビスアリーール誘導体の開発, 日本ケミカルバイオロジー学会 第 5 回年会, 横浜, 2010.05., P-32
3. 土井一生、田中里佳、○辻巖一郎、川上京子、佐々木茂貴, B→Z-DNA 構造遷移を有するビスアリーール化合物における B-Z 構造変換メカニズムの検討, 第 25 回生体機能関連化学シンポジウム, 東京, 2010.09., 2P-68
4. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴, 光照射により B-Z 誘起能を制御する低分子化合物の開発, 日本ケミカルバイオロジー学会 第 6 回年会, 東京, 2011.05., P-058
5. ○辻巖一郎、土井一生、川上京子、佐々木茂貴, 光照射により B-Z 誘起能を制御する低分子化合物の開発, 反応と合成の進歩シンポジウム, 徳島, 2011.11., P-058

(5) 特許等 なし

(6) その他 (受賞歴等)

1. 九州大学ベンチャービジネスラボラトリー 平成 22 年度「アカデミックチャレンジ 2010 研究助成」において研究テーマ「光照射により DNA の右巻き-左巻き構造を制御する低分子リガンドの開発」として採択

(研究概要)：これまでの研究によって核酸の構造は静的なものではなく、ダイナミックに構造変化可能ものであることが明らかになってきている。核酸の高次構造としては、一般的な二重らせん構造のみならず、三重鎖核酸、グアニン四重鎖核酸また左巻き二重らせん構造を有する Z 型核酸などが知られており、これらの特殊核酸構造の生物学的意義について注目が集まっている。修士課程においては DNA の構造を B 型から Z 型へと変化(B-Z 遷移)させる低分子リガンドの開発に取り組んだ(*Chem. Eur. J.* 2010)(図 1A)。その過程において開発した DNA 結合リガンドの一つであるビス(2-ナフチル)リガンドが閉環反応により[5]ヘリセン構造を形成することを見出した。この構造を誘導体化することで得られた、室温においても安定なジメチル[5]ヘリセンの R 体は右巻き B 型 DNA と、また S 体は Z 型 DNA とより高い親和性を示すことを明らかにした(*Bioorg. Med. Chem.* 2013)(図 1B)。また別の試みとして光応答性ユニットとしてアゾベンゼンを芳香環部に導入したリガンドを用い、光照射によってリガンドの持つ B-Z 遷移能を制御することに成功した(図 1C)。さらに不斉触媒反応のリガンドとして、銅キレート部位を導入した DNA 結合性リガンド/DNA/銅-複合体を用いることで銅触媒 Diels-Alder 反応における生成物のエナンチオマー比を変化させることが可能であることを見出した(博士論文)(図 1D)。

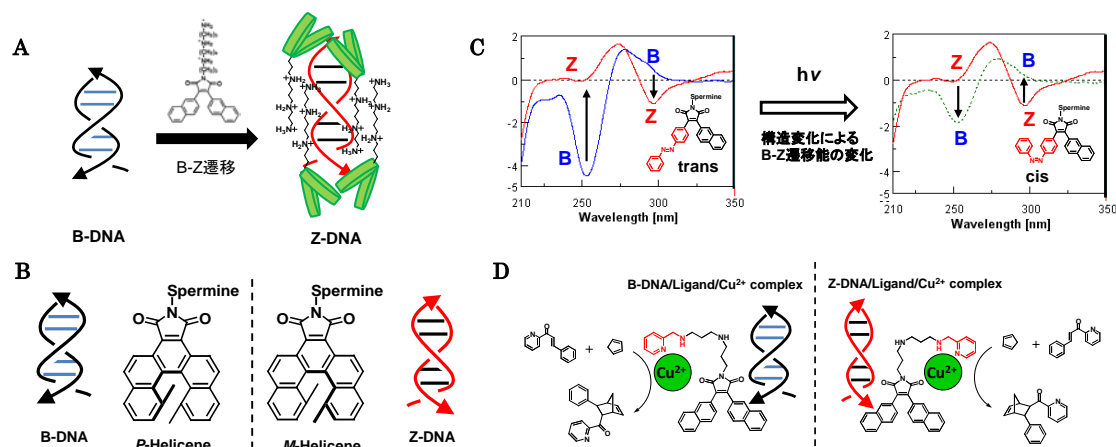


図 1. A) リガンドによる B-Z 遷移, B) [5]ヘリセンリガンドによる DNA のキラル認識, C) 光異性化によるリガンドの B-Z 遷移能変化, D) DNA/リガンド/銅錯体による Diels-Alder 生成物の異性体率変化の概念図

(東北大学多元研ポスドク)

生体内で生じうる核酸構造の一つとして、核酸塩基が脱離して生じる Abasic 部位が知られており、これは損傷塩基に対する酵素による修復過程においても重要な構造である。核酸構造に対する選択的反応の方法論の確立を目的とし、核酸のモデル構造の一つとして Abasic 部位を有する二本鎖 DNA を標的とした反応性リガンドの開発に取り組んだ。リガ

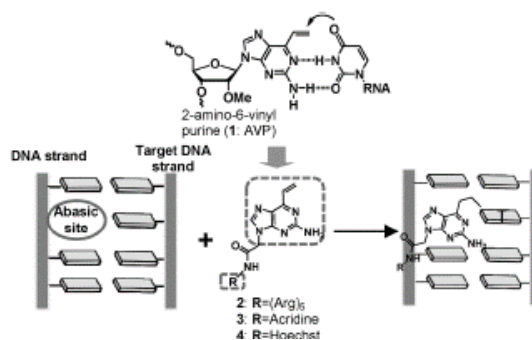


図 2. Abasic 部位における核酸塩基の選択的アルキル化

ンドの基本構造としては DNA 二本鎖との親和性部位と反応部位からなっており、親和性部位としては選択性も考慮して数種類の DNA 結合性リガンドを検討した。また反応性部位としては当研究室で開発された反応性核酸塩基である 2-アミノ-6-ビニルプリン(AVP)を用いた。この AVP が Abasic 部位において Absic 部位と対をなす核酸塩基と水素結合を形成し活性化されることで選択的なアルキル化反応が起こることを期待した(図 2)。合成した分子のうち、DNA 結合部位として Hoechst を導入したリガンドは Abasic 部位と対をなす位置のチミン塩基に対して高い選択性でアルキル化反応を起こすことが示された(*Chem. Commun.* 2015)。

(Maryland 大学 College Park 校)

近年、細菌細胞内のセカンドメッセンジャーとして c-di-GMP や c-di-AMP などの環状リン酸ジヌクレオチドが同定されている。これらは細菌細胞壁形成や感染因子の生産などバクテリアの生存に非常に重要なものであることが明らかとなっており、またそのリボスイッチもいくつか報告されている。当研究室では GFP(緑色蛍光タンパク)ミミックとして知られる Spinach を c-di-GMP のリボスイッチと組み合わせたアプタマーを用いて c-di-GMP を蛍光測定法にて検出することに成功している。しかし利用できる蛍光色素に限られること、またその蛍光発光波長が比較的短いことが生体サンプルへの適用における一つの問題点であった。この検出システムの拡張を目的とし、G 四重鎖形成配列をステム配列を介して c-di-GMP リボスイッチと連結させた RNA を設計・合成した。このシステムでは c-di-GMP 存在下で安定に形成される G 四重鎖構造とヘミンからなるペルオキシダーゼの活性を利用し、酸化された基質の蛍光を検出することで c-di-GMP の検出が可能となっている(図 3)(*Mol. Biosyst.*, *Revised*)。この手法では様々なペルオキシダーゼ基質の利用が可能であり、酸化によって長波長の発光波長を生じる基質を選択することで生体サンプル由来の蛍光物質による干渉を避けることができる

と期待される。

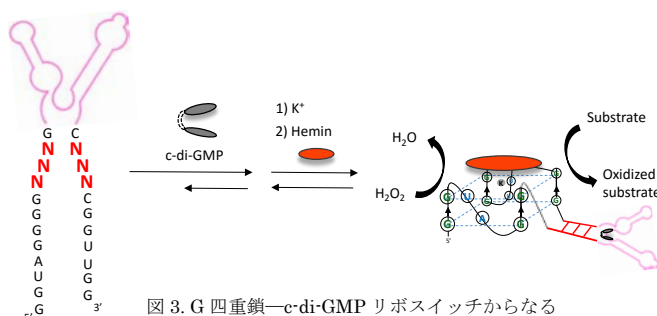


図 3. G 四重鎖-c-di-GMP リボスイッチからなるペルオキシダーゼによる c-di-GMP 検出

現在、他の環状リン酸ジヌクレオチドに対するアプタマーの作成も行っている。

また別の試みとして環状リン酸ジヌクレオチドの特異的分解酵素であるホスホジエステラーゼに対する阻害剤の探索、およびそれら阻害剤の誘導体化による構造の最適化を行っている(論文準備中)。さらに抗腫瘍活性を有する新規イソキノリン誘導体の合成も進行中である。

(研究に対する抱負)：これまで核酸化学を中心として研究を続けてきて得た知識・経験で御研究室に貢献できるものと考えております。御研究室の発展と研究者としての自らの成長を一番の目標とし、御研究室での活動を通じて自分の科学を探していきたいと考えております。何卒宜しくお願い致します。

研究計画: 細胞内ビルドアップ型新規 RNA 干渉法の開発

背景

RNA 干渉はバイオテクノロジーや医療技術において極めて利用価値が高い。通常の RNA 干渉法では、活性前駆体の長鎖二本鎖 RNA を作用させ、それが細胞内で様々なプロセスを経て活性型分子の siRNA 分子に変換される。

しかしながら、このような長鎖二本鎖 RNA 分子は、細胞膜透過性や不要な免疫応答を惹起するという問題を抱えている。そこで、私は siRNA を断片化し、細胞内で化学反応により活性 siRNA が構築される系を開発し、こうした問題を解決することを考えた (図 1)。基盤となる研究コンセプトは、すでに阿部らによって報告されているが (*Chem. Comm.*, 2014, 1284.)、この反応系では細胞内化学反応で構築される構造が、天然の構造とかけ離れているため、生物活性が劣ることが予想された。そこで本計画では、より天然に近い骨格を与え、かつ高効率に siRNA 分子が生じる反応系を開発し、その基盤反応を利用した新規ビルドアップ RNA 干渉法を開発することとした。

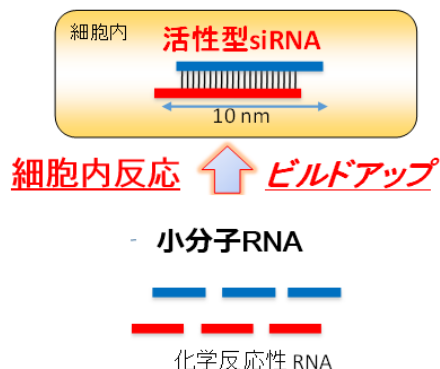


図 1 小分子 RNA を用いた活性型 RNAi 分子の細胞内ビルドアップ

計画

(1) 細胞内で行える基盤ライゲーション反応の開発

細胞内ビルドアップ反応の開発を目指し、RNA 分子を断片化させ、それぞれの末端にホスホロチオエート基と、3'アミノ基(あるいはヒドロキシ基)を持つ核酸断片を基質とする反応の検討を行う(図 2)。それら RNA 断片の相補鎖と、ホスホロチオエート基の活性化剤(求電子剤)を作用させることでライゲーション反応を行う。RNA 断片同士は相補鎖上で会合し、反応点が近接した状態となる。ホスホロチオエート基が求電子剤で活性化され、近傍に存在するもう一方の RNA 断片の 3'-アミノ基あるいはヒドロキシ基が求核攻撃をし、核酸断片が連結(ライゲーション)することが見込まれる。この反応の検討を通じて、ライゲーションに適切な求電子的活性化剤、反応条件を見出す。

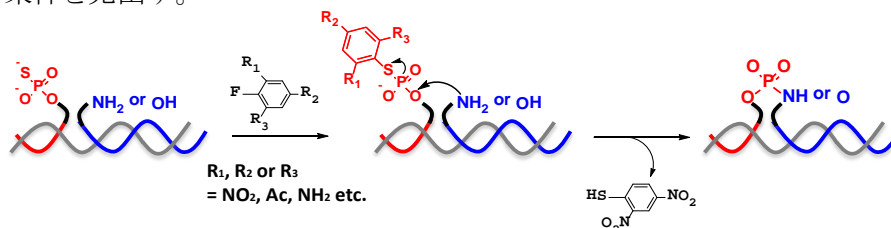


図 2 ホスホロチオエート基の活性化による新規核酸連結反応

(2) 基盤反応を用いたビルドアップ RNA による RNA 干渉法の確立

上記で開発したライゲーション反応を基盤として、細胞内で活性型 siRNA が効率的に構築されるビルドアップ RNA システムを開発する。求核部位としてアミノ基を用いた例を図 3 に示す。アミノ基末端を、GSH 等のチオールで脱保護される保護基で保護をする。ホスホロチオエート部位に関しては、図のようにあらかじめ求電子剤で活性化された分子種を用いる。細胞内に入った RNA 断片は、GSH による脱保護を経ながら相補鎖同士で会合し、断片末端の反応点同士が近接化され、ライゲーション反応が進行し活性型 siRNA が構築される。このようにして細胞内で構築される活性型 siRNA は、天然の RNA 骨格に極めて近い構造を持つため、免疫応答や膜透過性などの問題を回避しながら、高い活性を有する RNA 干渉法につながると期待される。また構築されたビルドアップ型 RNA 干渉法の効果を細胞系で評価を行う予定である。

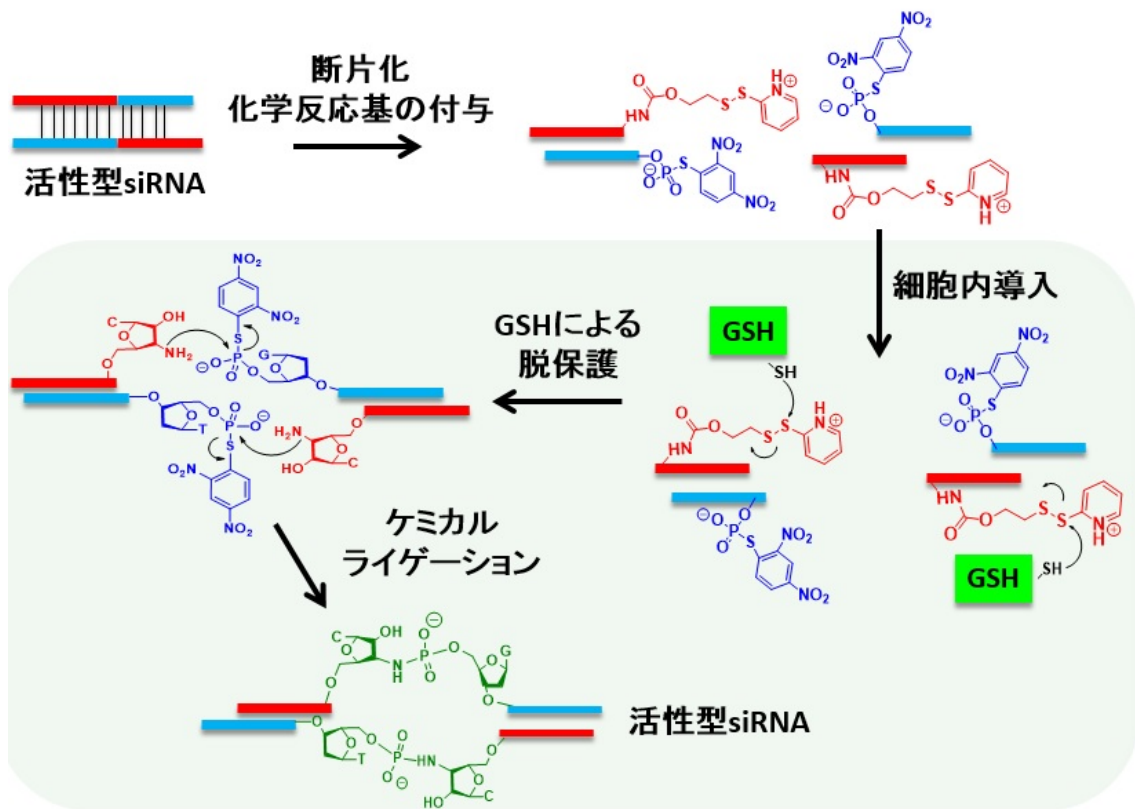


図 3 新規核酸連結反応を用いた効率的な細胞内ビルドアップ型 RNA 干渉法