

アルキニルヌクレオシドの効率的合成法の開発と

それを用いる完全人工 DNA の創出

氏名： 白土 渉

はじめに

化学的手法を用いて DNA 類縁体 (人工 DNA) を合成し、その構造や物性を天然 DNA と比較検討する研究は、DNA の高次構造や基本骨格の必然性を理解するうえで、また人工 DNA を医療へと応用するうえでも非常に有用な情報を与える。しかしこれまで合成されてきた人工 DNA は、その一次構造や二次構造が天然 DNA と大きく異なっていることがほとんどであった。著者の所属する研究室では、モノマーユニットが全て非天然分子から構成されているにもかかわらず、物性が天然 DNA と類似している人工 DNA を開発した。しかしこの人工 DNA においても、一部の人工核酸塩基で天然核酸塩基と異なる挙動を示す場合があった。そこで本研究では、この人工 DNA の挙動をさらに天然 DNA へと近づけるため、人工 DNA の構造、特に人工核酸塩基部位の最適化を行うことにした。

第1章. アルキニル C-ヌクレオシドの効率的合成法の開発

菌頭反応は、著者らの人工 DNA のモノマーユニットであるアルキニル C-ヌクレオシドを合成する際の鍵反応である。通常の菌頭反応では、溶媒としてトリエチルアミン等を利用する。しかしこの種の汎用されるアミン類を、アルキニル C-ヌクレオシド合成へと適用した際には、反応収率が低い傾向にあった。その理由として、人工核酸塩基部位にはアミノ基やカルボニル基、アルキニル糖部位にはヒドロキシ基など反応性の高い官能基が多く、通常の基質よりも副反応が起こりやすいためであると推測した。

本研究において、種々反応条件の最適化を行った。その結果、*N, N*-ジメチルホルムアミドとヘキサメチルジシラザンを組み合わせることで *in situ* で基質のアミノ基やヒドロキシ基が保護され、良好な収率で目的とするアルキニル C-ヌクレオシドが得られることを見出した。この組み合わせを用いることで、様々な人工核酸塩基部位を持ったアルキニル C-ヌクレオシドを合成することに成功した。

第2章. 人工 DNA におけるアルキニル糖骨格の立体配座解析

人工 DNA のアルキニル糖部位の立体配座に関する評価を、X 線結晶構造解析と $^1\text{H NMR}$ を用いて行った。天然 T 塩基の人工類似体 T* を持つ人工ヌクレオシドの X 線結晶構造解析から、単位胞中で2つの異なる立体配座が存在し、その2つの立体配座はともに天然 B 型 DNA と類似した立体配座であった。また $^1\text{H NMR}$ の結果からも、T* ヌクレオシドは天然 B 型 DNA で見られる立体配座をとることがわかった。同様に、T* ジヌクレオチドの立体配座も $^1\text{H NMR}$ から見積もり、天然 B 型 DNA と類似した立体配座であることを確認した。以上の結果から、アルキニル糖のデオキシリボース環は、天然の B 型 DNA 類似の立体配座をとっていると判断した。

第3章. DAD/ADA·ADD/DAA 型水素結合対を有する新規人工 DNA の創出

著者の所属する研究室では、A*(DA)、T*(AD)、iG*(DDA)、iC*(AAD) の4種類の人工核酸塩基部位を有する人工 DNA を報告している (括弧内の D と A は、それぞれ水素結合ドナーとアクセプターを示す)。A*、T*、iG*、iC* はそれぞれ、天然 A、T、G、C の類似体である。しかし A* ホモオリゴマーは T* ホモオリゴマーと三重鎖のみを形成し、iG*/iC* 塩基対は天然 G/C 塩基対と水素結合様式が反転している。そこで本研究では、この人工 DNA の挙動をより天然 DNA へと近づけるために、人工核酸塩基部位の改変を行うことにした。A* ホモオリゴマーが T* ホモオリゴマーと三重鎖のみを形成するのは、A* 塩基の対称性に由来する。そこで A* の対称性を崩すために、3点目の水素結合点を導入した D*(DAD) を設計した。また iG*(DDA)/iC*(AAD) は、天然 G(ADD)/C(DAA) と同じ水素結合様式を持つ G*(ADD)/C*(DAA) に改変した。

まず、新規に合成した D* の二重鎖形成能を評価した。D* ホモオリゴマー ($d(\text{D}^*)_{16}$) と T* ホモオリゴマー ($d(\text{T}^*)_{16}$) に関しては、1対1の混合溶液では1つの融解温度 (T_m) 値が得られた。一方、 $d(\text{D}^*)_{16}$ と $d(\text{T}^*)_{16}$ の1対2の混合溶液では、2つの T_m 値が得られた。 T_m 値の比較と円二色性スペクトルによる滴定実験から、これら2つの T_m 値は、低い方から三重鎖と二重鎖の解離にそれぞれ相当することが判明した。新規に合成した4種の人工核酸塩基を全て含む人工 DNA においても、配列特異的に二重鎖を形成することを確認した。また円二色性スペクトルの符号より、人工 DNA が形成する二重らせんは右巻きであることが推測され、これは MacroModel を用いたシミュレーションの結果と一致した。