

# 論文審査の結果の要旨

氏名 明 谷 早 映 子

近年、遺伝子アルファベットの拡張を指向して、天然型塩基対の水素結合を、非天然型水素結合、疎水性パッキング、金属錯形成などに置き換える人工核酸塩基対の合成研究が盛んに行われている。これらの中には、酵素により認識され鋳型鎖の人工核酸に相補的に取り込まれるものもある。人工核酸が酵素に認識されるケースとして、主に、人工核酸のトリリン酸化体が核酸合成反応の基質である場合と、鋳型鎖に人工核酸が含まれているときの核酸伸長反応の場合がある。このような遺伝子発現の基盤となる酵素反応における人工核酸の役割と構造活性相関を明らかにすることは、遺伝子発現制御法の開発に重要な知見をもたらすであろう。

本論文は、「序論」、「第一章」、「第二章」、「まとめ」からなる。

序論には本研究の背景・位置付け・論文の概要が記述されている。

第一章では、水素結合能を持つフェノール性水酸基を持つ $\beta$ -C-ヌクレオシドトリリン酸化体が DNA ポリメラーゼ反応に及ぼす効果についての検討が行われた。その結果、フェノール性水酸基を二つ持つ人工核酸トリリン酸化体は DNA 鎖には取り込まれず、用量依存的な標的 DNA 合成阻害が見られた。そこで、より詳細な阻害活性と水酸基の位置及び数の関係を調べるために、フェノール性水酸基を一つ持つ基質と、水酸基を持たない基質がコントロールとして合成された。次に、数種の DNA ポリメラーゼを用いてフェノール性水酸基を持つ人工核酸の影響を調べたところ、フェノール性水酸基を二つ持つカテコール型人工核酸が最も強い阻害効果を示すことが明らかになった。さらに、人工核酸と天然型基質の競争反応を行い、酵素による認識が同様であることを示した。

以上のように第一章では、水酸基を二つ持つカテコール型人工核酸が DNA 合成を強く阻害することが明らかになり、その酵素による認識は天然の基質と類似していることが示された。第一章の成果は、水素結合能を持つ $\beta$ -C-ヌクレオシドが DNA ポリメラーゼに及ぼす影響を調べた初めての例である。酵素反応を阻害する人工核酸は、抗がん・抗ウイルス剤として注目されているため、水素結合能を持つ人工核酸

の核酸薬剤としての応用が期待できる。

また第二章では、DNA 鎖に導入された立体的にかさ高い人工核酸が、酵素による DNA ・ RNA 合成反応に及ぼす効果が記述されている。核酸塩基部に 3,4-dibenzyloxyphenyl 基 (X) を持つ立体的にかさ高い人工核酸の合成法が記述され、オリゴマー中に導入した場合に X が酵素による核酸合成に与える影響が評価された。また対照実験は、同じ位置にグアニンを持つオリゴマーを用いて行われている。その結果、X の位置での DNA ・ RNA 合成の停止は非常に位置特異的であることが示された。一方、対照実験では完全長の産物が得られた。この結果は、DNA 鎖の任意の位置に X を挿入することより、求める長さの DNA ・ RNA オリゴマーが合成できる可能性を示した。

以上のように第二章の成果は、かさ高い人工核酸を DNA 鎖に挿入することで、DNA ・ RNA 合成を任意の位置で精度よく制御可能であることを明らかにし、正確な配列の DNA ・ RNA 鎖が必要とされる遺伝子工学の分野での応用が期待できる。

まとめの章では、本論文の総括および、今後のこの研究の展望が述べられている。

以上のように本博士論文では、フェノール性水酸基を持つ人工核酸が様々な核酸関連酵素反応に与える影響を評価し、水素結合及び金属配位結合をもつ人工核酸が医薬品、また任意の長さ・配列を持つ核酸を合成するツールとして活用することができる可能性を示した。

なお、本論文の第一～二章は、田中健太郎氏、平岡秀一氏、天花寺厚氏、城始勇氏、石浜明氏、山本兼由氏、Honghua Cao 氏、および塩谷光彦氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有すると認める。