

論文審査の結果の要旨

氏名 山 田 泰 之

近年、DNA 高次構造形成の基本原理の一つである核酸塩基間の水素結合を、人工核酸塩基を利用して「金属配位結合」に置き換える研究が盛んに行われている。DNA はヌクレオチドを逐次的に縮合・伸長させることにより、任意の長さや配列を持つシーケンスを合成することが可能である。このため、「金属錯体型人工核酸塩基対」の手法をもちいることにより、金属イオンの数および配列を自在に制御して DNA 内部に配列化できる可能性がある。本研究では、ピリジン型人工塩基を用いた、金属錯体型核酸塩基対による人工 DNA 二重鎖および三重鎖構造の構築、および人工 DNA 内部への金属イオンの集積化が行われた。

本論文は全 5 章からなり、第 1 章では、本研究の目的、背景が記述されている。

第 2 章では、ピリジン型人工塩基対の DNA 二重鎖中への導入方法について記述されている。まず、ピリジン型人工ヌクレオチドの有機合成法、および DNA 自動合成機を用いた DNA シーケンス中へ導入法が示されている。まず、ピリジン型塩基対を導入した二重鎖を用いて、金属錯体型核酸塩基対が人工 DNA 二重鎖の熱力学的にどのような効果を及ぼすかについて検討が行われた。ピリジン型ヌクレオチド **P** をシーケンスの中央に導入した二重鎖に対して Ag^+ イオンを加えた DNA の融解実験を UV 吸収スペクトル測定により行ったところ、人工 DNA 二重鎖に対して Ag^+ イオンを添加していくと、 Ag^+ イオンの濃度の上昇にともなって二重鎖が熱的に大きく安定化されることが示された。これに対して、ピリジン型塩基対を含まない、天然型 A-T 二重鎖では、 Ag^+ イオンを添加しても、二重鎖の安定性はほとんど変化しなかった。この結果は、ピリジン型塩基対を含む人工 DNA 二重鎖に Ag^+ イオンを添加すると、**P-Ag⁺-P** 直線型塩基対が形成されて二重鎖が安定化されたものであると考察されている。さらに、ピリジン型塩基対を含む二重鎖の熱力学パラメーターおよび、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル測定の結果についても報告されている。また、添加する金属イオンとして、 Ni^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Hg^+ イオンについてもそれぞれ人工 DNA 二重鎖の融解温度に及ぼす影響について検討も行われたが、融解温度の変化は Ag^+ イオンに特異的に起こることが明らかになった。

第 3 章では、ピリジン型人工核酸塩基対の DNA 三重鎖への導入が報告されている。

中央に一つのピリジン型人工塩基対を有する人工 DNA 三重鎖に対して Ag^+ イオンを添加することにより、三重鎖から二重鎖への解離温度および二重鎖から一本鎖への解離温度がともに上昇した。一方、天然の核酸塩基のみからなる三重鎖では、 Ag^+ イオンによる安定化の効果は見られなかった。この結果は、人工 DNA 二重鎖の場合と同様に人工 DNA 三重鎖においても、 Ag^+ イオンがピリジン部位との錯形成により塩基対を形成して三重鎖構造が安定化されたことを支持した。

第4章では人工 DNA を用いた金属イオンの集積化について記述されている。中央に2つのピリジン型塩基対を含む二重鎖と両末端付近に2つのピリジン型塩基対を含む二重鎖を合成し、 Ag^+ イオンを加えた融解実験を行った。この結果、ピリジン型塩基対を導入したいずれの二重鎖においても Ag^+ イオンの添加により融解温度が上昇し、**P- Ag^+ -P** 型塩基対の形成が示唆された。このように、DNA 合成の手法を用いれば錯体型塩基対を二重鎖の様々な位置に導入が可能であり、二重鎖の安定性を制御できることがわかった。また、より一般的な金属イオンの集積化法の開発を目指した、天然の核酸塩基を含まない完全人工型ヌクレオチドを用いた金属イオンの集積化法が確立された。その結果、ピリジン型人工 DNA を用いれば、 Ag^+ や Hg^{2+} 二核錯体が合成可能であることが NMR、UV-Vis、ESI-TOF MS スペクトル測定の結果により明らかにされた。

第5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、核酸塩基としてピリジン型人工ヌクレオチドを導入した人工 DNA の合成法、および金属錯体型塩基対による人工 DNA の高次構造の熱的安定化効果が明らかにされ、さらに、ピリジン型人工塩基対を用いる金属イオンの集積化への道が拓かれた。

なお、本論文の第2～4章は、田中健太郎氏、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。