

## 論文の内容の要旨

論文題目      リボースに金属配位子を導入した人工ヌクレオシドの合成と  
金属錯形成による主鎖形成

氏 名      千 葉 順 哉

DNA の主鎖は、デオキシリボースがリン酸ジエステル結合を介して縮重合している。その主鎖を共有結合ではなく、可逆な結合とすることにより、テンプレート DNA の持つ情報に従ってモノマーが組織化する分子集積体を構築できる可能性がある。金属配位結合は、用いる金属イオンと配位子の組み合わせを変えることにより、金属錯体の熱力学的安定性や電荷を制御できる可逆的な非共有結合である。本研究は、DNA の主鎖に金属配位結合を導入し、金属錯形成を駆動力として、可逆的に主鎖形成可能な人工 DNA の創製を目的としている(Fig. 1)。この人工 DNA は、テンプレート DNA を金属錯体の集積場として利用するため、金属錯形成を介して、モノマー配位子が自発的かつ可逆的に組織化し、熱力学的に安定な一義的構造が構築されると期待できる。筆者は、リボースに金属配位部位を導入した種々の人工ヌクレオシド(Chart 1)を合成し、金属イオンとの錯体形成ならびにテンプレート DNA との相互作用を検討した。

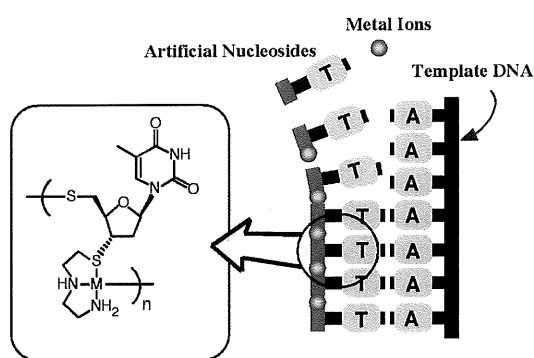
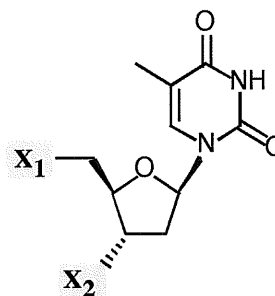


Fig. 1. DNA-directed Self-assembly

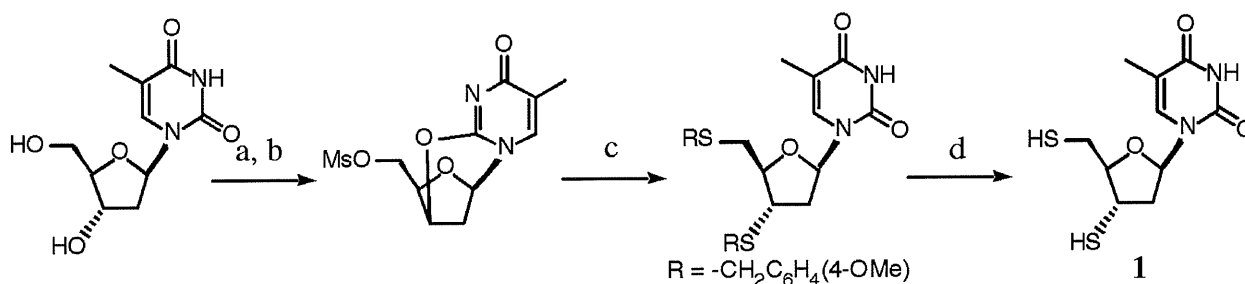


- 1:  $X_1 = -SH$      $X_2 = -SH$   
2:  $X_1 = -SH$      $X_2 = -S(CH_2)_2NH(CH_2)_2NH_2$

Chart 1. Thymine-type Artificial Nucleosides

### 【3'位と5'位に同じ金属配位部位を導入した人工ヌクレオシドの合成】

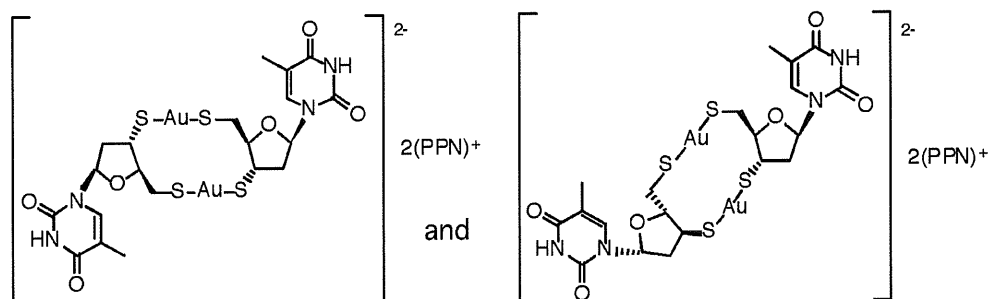
ヌクレオシドの3'、5'位水酸基をチオール基に置換した人工ヌクレオシドを(Scheme 1)に従って合成した。2'-デオキシチミジンを出発原料とし、鍵中間体となる分子内環化体へと誘導した。この分子内環化体に対して $S_N2$ 反応により硫黄ドナー原子を導入し、続いて脱保護反応を経て目的とする3',5'-ジチオ-2'-デオキシチミジン **1** を高収率で得た。リボースの3'位の立体配置は、X線結晶構造解析により確認を行った。



**Scheme 1.** (a) MsCl, Pyridine, 96%; (b) Et<sub>3</sub>N, EtOH, 93%; (c) NaH, 4-methoxy- $\alpha$ -toluenethiol, DMA, 97%; (d) TFA, phenol, 72%.

### 【3'位と5'位に同じ金属配位部位を導入した人工ヌクレオシドの金属錯形成】

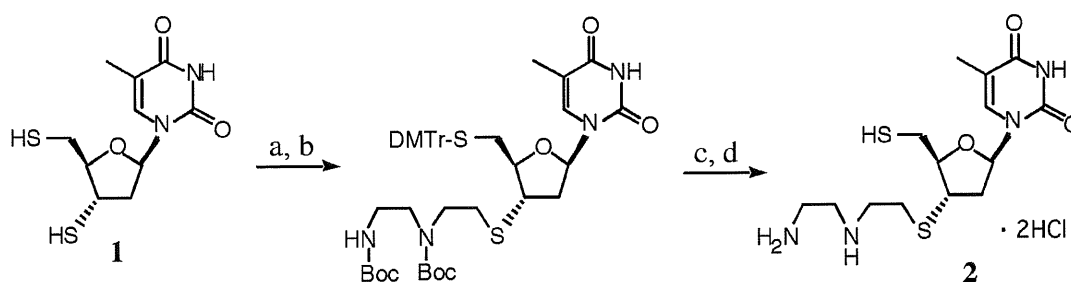
次に、化合物 **1** と Au(I)イオンとの錯形成を行った。Au(I)イオンは二つのチオール基と直線型の錯体を形成することが知られている。アセトン溶液中、**1** と Au(I)イオンとを 1 : 1 の比で混合し、さらにジエチルエーテルを加え白色固体として生成物を得た。この白色固体の<sup>1</sup>H-NMR および ESI-TOF mass スペクトル測定を行ったところ、**1** は脱プロトン化を伴って Au(I)イオンと 2 : 2 錯体を形成することが示唆された。錯体の推定構造を下図に示す。Au(I)イオンとチオラート基の間の配位子交換は室温で容易に起こるため、下図のような異性体が生成したと考えられる。



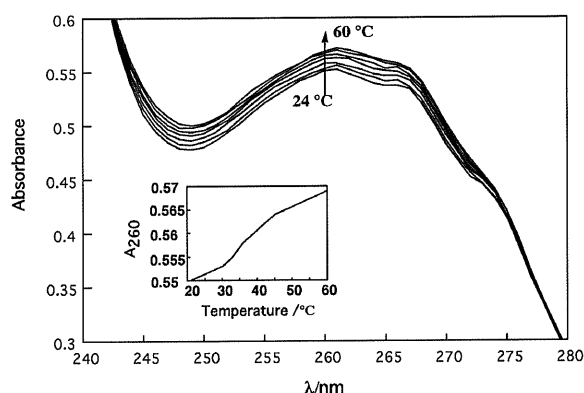
この錯体とテンプレート DNA との相互作用を検討した(Fig. 2)。Poly(dA)に対して、核酸塩基濃度で等量の錯体を混合した溶液の UV スペクトル測定を行った。室温から 60 °C まで徐々に昇温したところ、核酸塩基由来の 260 nm における吸収が濃色効果を示した。この 260 nm における吸光度を温度に対してプロットすることにより、天然の DNA と同様な融解曲線が得られた。融解曲線の変曲点より求めた融解温度は、約 40 °C であった。この現象は、天然の二重鎖 DNA の融解に伴う UV 吸収変化と類似している。しかしながら、複合体の構造に関する知見が得られなかったため、新たに人工ヌクレオシドを分子設計することにした。

【3'位と 5'位に異なる金属配位部位を導入した人工ヌクレオシドの合成】

DNA の 3'、5'方向性を積極的に制御すべく、デオキシリボースの 3'位と 5'位に異なる金属配位部位を有する新たな人工ヌクレオシドを考案した。化合物 1 の 3'-チオールを三座配位部位へと変換した人工ヌクレオシド 2 を設計・合成した。化合物 1 の 5'-チオールを選択的に保護した後、3'-チオールを三座配位部位へと誘導した。続いて 5'位の保護基のみを選択的に除去し、次に 3'位側を脱保護することにより、2 を 2 塩酸塩として単離した(Scheme 2)。



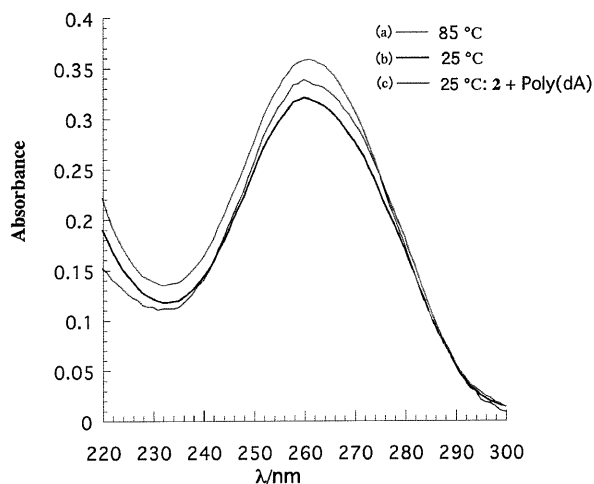
**Scheme 2.** (a) DMTrCl, pyridine, THF, 87%; (b) (Boc)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(Boc)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OTs, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, THF, 88%; (c) (i) AgNO<sub>3</sub>, NaOAc, THF/MeOH; (ii) DTE, NaOAc, THF/MeOH, 82%; (d) HCl/dioxane, 92%.



**Fig. 2.** Temperature-dependence of UV absorbance for the mixture of Au(I) complex and Poly(dA) (24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 °C). Inset, UV-melting curves ( $\lambda = 260$  nm) of the same solution. [Au(I) complex] = [Poly(dA)] = 20  $\mu$ M in 40% methanol aqueous solution containing 1.0 mM Mops (pH 7.0), 10 mM NaCl.

### 【3'位と5'位に異なる金属配位部位を導入した人工ヌクレオシド金属錯形成】

合成した化合物 **2** と Zn(II)イオンとの錯形成を試みた。炭酸カリウムで中和した化合物 **2** と ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O を 1 : 1 の比で混合した水溶液の、ポジティブイオンモードでの ESI-TOF マススペクトル測定を行った。分子量 423.06 に、化合物 **2** と Zn(II)イオンとが 1 : 1 の比で錯形成した錯体 [2 - H<sup>+</sup> + Zn<sup>2+</sup>]<sup>+</sup>に相当するピークが観測され、同位体パターンも理論値と良い一致を示した。この値は、金属錯体がポリマー構造を形成したときのビルディングブロックの分子量に相当する。また、重水中 <sup>1</sup>H NMR 測定を行ったところ、ヌクレオシド部分のピークがブロードに観測されたことから、錯体がポリマー構造である可能性が示唆された。次に、亜鉛錯体とテンプレート DNA の相互作用の検討を、UV 淡色・濃色効果や融解温度測定により試みた。Poly(dA)に対して、核酸塩基濃度で等量の化合物 **2** と Zn(II)イオンを加えた混合溶液の UV スペクトル測定を行った(Fig. 3)。25 °C



**Fig. 3.** UV absorbance for the mixture of **2**, Zn(II), and Poly(dA) at (a) 85 °C and (b) 25 °C. (c) Sum of UV absorbance for **2** and Poly(dA) at 25 °C. [2] = [Zn(II)] = [Poly(dA)] = 20 μM in aqueous solution containing 1.0 mM Mops (pH 7.0), 10 mM NaCl.

において、Poly(dA)のみと化合物 **2** のみの吸収スペクトルの和 (Fig. 3 (c)) よりも、混合溶液の 260 nm における吸収が淡色効果を示した。また、この混合溶液を 85 °C まで徐々に昇温したところ、核酸塩基由来の 260 nm での吸収に大きな濃色効果がみられた。260 nm での吸光度を温度に対してプロットすると融解曲線が得られた。変曲点より求めた融解温度は、約 60 °C であった。これらの現象は、天然の二重鎖 DNA の融解に伴う UV 吸収変化に類似している。

### 【結論】

筆者は、金属錯生成により主鎖形成する人工 DNA の創製を目指し、金属配位部位を導入した人工ヌクレオシド **1**, **2** を設計・合成し、各種金属イオンとの錯形成を行った。化合物 **1** は Au(I)イオンと、**2** は Zn(II)イオンと錯形成させ、それぞれの錯体について <sup>1</sup>H-NMR および ESI-TOF mass スペクトル測定により構造解析を行った。化合物 **1** と Au(I)イオンから得られた金属錯体がテンプレート DNA と有効に相互作用することを、融解実験により明らかにした。しかし、複合体の構造に関する知見は得られなかった。ヌクレオシドの 3', 5'-方向性を積極的に制御した化合物 **2** と Zn(II)イオンから得られた錯体はポリマー構造を形成していると示唆された。この錯体と Poly(dA)とが有効に相互作用していることを、UV 淡色・濃色効果と融解温度測定により明らかにした。本研究では人工 DNA の主鎖が金属錯形成により構築されるため、電気・磁気化学的な興味が持たれるのはもちろんのこと、医薬分野への応用も期待できる。