

# 論文審査の結果の要旨

氏名 梅本 忠士

本論文は、近年需要の高まっている RNA の効率的な化学合成法の開発を目的とし、新しい手法によって RNA を合成する研究について述べたものであり、6 章より構成されている。

第 1 章は序論であり、遺伝子発現制御が可能な RNA の作用機構や化学的に合成された RNA の必要性、さらに、化学的に RNA を合成する際に必要な 2'-水酸基保護基の報告例とそれらの問題点を述べるとともに、本研究の目的と意義を述べている。

第 2 章では、2'-水酸基の保護基として、塩基性条件下脱保護が可能な 1-(2-シアノエトキシ)エチル(CEE)基を用いるモノマーユニットの合成と、CEE 基の脱保護条件について検討した結果を示している。まず、モデル化合物を用いた CEE 基の脱保護条件の検討によって、塩基として TBAF を用いると、CEE 基は迅速に脱保護されることを見いだしている。また CEE 基は、塩基部およびリン酸保護基の除去に用いられるアンモニア水処理条件下では極めて安定に存在することも見いだしている。これらの CEE 基の性質から、2'-水酸基を CEE 基で保護した RNA 合成中間体をアンモニア水によって処理し、塩基部位、リン酸の保護基及び固相担体からの切り出しを行ない、TBAF を用いて CEE 基を除去することによって、RNA 鎖を分解することなく脱保護が可能であることを明らかにしている。

第 3 章では、前章で合成したモノマーユニットを用い、実際に 2 量体を合成し、その脱保護を行なった結果について述べている。2 量体を用いた CEE 基の脱保護に TBAF を用いることによって、目的とする RNA 2 量体を得られるが、アデノシンとシチジンを含む 2 量体の場合、塩基部位に 2-シアノエチル化が進行することを明らかにしている。これは、CEE 基脱保護反応の副生成物であるアクリロニトリルが塩基性条件下、Michael 型の付加反応を引き起こしていることが原因であることを明らかにしている。この副反応を抑制するために、アクリロニトリルの捕捉剤を種々検討した結果、ニトロメタンを添加することによって、ほぼ完全に副反応を抑制することに成功している。

第 4 章では、液相反応によって得られた結果をもとに、自動合成機を用いた固相合成法

によってオリゴヌクレオチドを合成した結果を述べている。CEE 基で保護したモノマーユニットを用いる縮合反応収率は 98-99%であり、十分効率の高いことを示している。合成した 10-21 量体を脱保護し、それぞれ単離することに成功している。

第5章では、ニトロメタンを用いるアクリロニトリル捕捉反応の汎用性について述べられている。アクリロニトリルは、一般の核酸合成でリン酸の保護基として用いられている 2-シアノエチル基を除去する際にも副生することが知られているが、核酸の医薬としての利用を目指した大スケールでの合成では、アクリロニトリルが発癌性を持つことや、脱保護反応条件下でチミン塩基の 2-シアノエチル化を引き起こすことが問題となっている。これらの背景をもとに、ニトロメタンを一般核酸合成におけるアクリロニトリルの捕捉剤として用いる検討を行っている。チミジンに対するアクリロニトリルの付加反応は、ニトロメタンを添加すると効果的に阻害できることを明らかにしている。さらに、一般に有機合成で、塩基性条件下  $\beta$ -脱離によって除去が可能な保護基を脱保護する際に生成するアルケンによって引き起こされる Michael 型の副反応は、ニトロメタンを添加するよって効果的に抑制する可能性について述べている。

第六章は本論文の総括であり、開発した RNA の合成法の特徴と有用性を述べている。

以上のように、塩基性条件下脱保護可能な 2'-水酸基保護基を用いる新規 RNA 合成法は、そのまま現在の固相合成機に適応可能であり、さらなる最適化を行えば、従来法より優れた合成法になり得ることを明らかにしている。これらの成果は、有機合成化学、核酸化学、医化学の進展に寄与するところが大きい。

よって本論文は、博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。