

## 論文内容の要旨

題目： Heterogeneous Metal Arrays Using Artificial DNA

人工DNAを用いた異種金属イオンの配列化

氏名：竹澤 悠典

### 【序】

金属錯体は酸化還元性や磁性などの多様な物性を有しており、特に一次的に配列化することによる新規物性の発現に興味を持たれている。しかしながら、複数の種類の金属イオンを数や位置を制御して配列化する一般的な方法論は確立されていない。一方 DNA は、二重らせんの内側に平面性の高い塩基対が積層配列した高秩序の骨格構造を有している。さらに、ビルディングブロックであるヌクレオシドの逐次縮合により、任意の長さや配列のオリゴマーを合成できるため、ボトムアップによる機能性分子構築のための優れたモチーフである。そこで本研究では、金属配位結合によって塩基対を形成する金属配位子型人工ヌクレオシドを DNA オリゴマー鎖に導入することにより、人工 DNA 二重鎖内へ異種金属イオンをあらかじめ定めた数や配列で集積することを目的とした。

金属配位子である人工ヌクレオシドと金属イオンとを 1:1 に対応させれば、人工 DNA の配列、すなわち配位子の配列に応じて自在に金属イオンを集積化できると考えられる (図 1)。そこでまず、2 種類の人工ヌクレオシドを導入した DNA を用いて、異種金属イオンの配列化について検討した。次に、集積する金属イオンの種類を増やすことを目指し、異なる金属選択性を有する新規

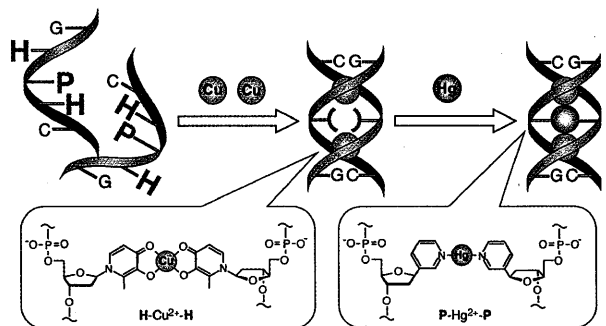


図 1 2 種類の金属配位子型ヌクレオシドを導入した人工 DNA による異種金属イオンの配列化

人工ヌクレオシドをデザイン・合成し、金属錯体型塩基対の形成について評価した。

## 【ピリジン型およびヒドロキシピリドン型ヌクレオシドを用いた異種金属イオンの配列化】

$\text{Cu}^{2+}$ イオンと選択的に金属錯体型塩基対をつくるヒドロキシピリドン型ヌクレオシド(**H**)および  $\text{Hg}^{2+}$ イオンに選択的なピリジン型ヌクレオシド(**P**)を導入した人工 DNA による、2種類の金属イオンの配列化を行った(図1)。DNA オリゴマー 5'-GHPHC-3' (**DNA-1**) および、5'-GHHPHC-3' (**DNA-2**)を合成し、紫外(UV)吸収スペクトルおよび円二色性(CD)スペクトルを用いた滴定実験により、金属錯体型塩基対の形成を評価した。

**DNA-1** に  $\text{Cu}^{2+}$ イオンを添加したところ、新たに 310 nm に吸収が現れた

(図2a)。これは、**H**の水酸基の脱プロトン化に由来し、**H-Cu<sup>2+</sup>-H**錯体の形成を示している。スペクトルは、 $\text{Cu}^{2+}$ イオンを二重鎖に対して2当量加えるまで等吸収点を通りながら直線的に変化したことから、2ヶ所の**H**部位に  $\text{Cu}^{2+}$ イオンが定量的かつ位置選択的に集積したことが明らかとなった。また ESI-TOF マススペクトルで、二重鎖(**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$  ( $\text{C}_{102}\text{H}_{126}\text{N}_{22}\text{O}_{58}\text{P}_8\text{Cu}_2$ )に帰属される  $m/z = 492.70$  ( $[\text{M} - 6\text{H}]^6$ )のシグナルが観測され、同位体パターンも計算値とよく一致したことから(図2b)、目的の  $\text{Cu}^{2+}$ 二核錯体の形成が示された。

次に、二重鎖(**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ に対し  $\text{Hg}^{2+}$ イオンの滴定を行った。CD スペクトルは、**H-Cu<sup>2+</sup>-H**塩基対に由来する 302 nm 付近の正のコットン効果が次第に減少し、 $\text{Hg}^{2+}$ イオンを1当量加えるまで系統的に変化した(図2c)。これは、中央の**P**部位に1当量の  $\text{Hg}^{2+}$ イオンが結合したためと考えられる。さらに、ESI-TOF マススペクトルで (**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ • $\text{Hg}^{2+}$  ( $\text{C}_{102}\text{H}_{128}\text{N}_{22}\text{O}_{58}\text{P}_8\text{Cu}_2\text{Hg}$ )に帰属される  $m/z = 450.47$  ( $[\text{M}^+ - 9\text{H}]^7$ )のシグナルが観測され、同位体パターンも計算値とよく一致した(図2d)。このことから、**DNA-1**二重鎖中に2個の  $\text{Cu}^{2+}$ イオンと1個の  $\text{Hg}^{2+}$ イオンを  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{Hg}^{2+}$ - $\text{Cu}^{2+}$ という配列で、定量的かつ位置選択的に集積できたことが示された。

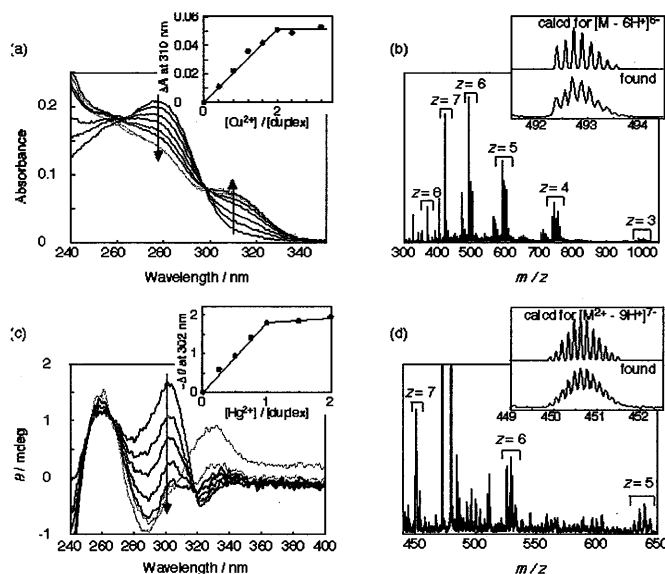


図2 (a)  $\text{Cu}^{2+}$ イオンの添加による(**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ 二重鎖のUV吸収スペクトルの変化。(b) (**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ のESI-TOFマススペクトル。(c)  $\text{Hg}^{2+}$ イオンの添加による(**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ 二重鎖のCDスペクトルの変化。(d) (**DNA-1**)<sub>2</sub>• $\text{Cu}^{2+}_2$ • $\text{Hg}^{2+}$ のESI-TOFマススペクトル。(a), (c)  $[(\text{DNA-1})_2] = 2.1 \mu\text{M}$ , 10 mM HEPES (pH 7.0), 50 mM  $\text{NaNO}_3$ , 25 °C,  $l = 1 \text{ cm.}$ )

同様に、ヘプタヌクレオチド **DNA-2** についても、UV 吸収および CD スペクトルによる滴定実験、ESI-TOF マススペクトルの測定により、**H**-Cu<sup>2+</sup>-**H** および **P**-Hg<sup>2+</sup>-**P** 塩基対の形成による定量的な異種金属イオンの配列化 Cu<sup>2+</sup>-Cu<sup>2+</sup>-Hg<sup>2+</sup>-Cu<sup>2+</sup>-Cu<sup>2+</sup>が達成されたことが示された。

以上のように、金属選択性が異なる 2 種類の金属配位子型ヌクレオシドを導入した DNA オリゴマーにより、人工 DNA 上の配位子の配列としてあらかじめデザインした順序で、定量的かつ位置選択的に複数・異種の金属イオンを配列化することに成功した。

### 【メルカプトピリドン型ヌクレオシドの合成と金属錯体型塩基対形成】

人工 DNA 中に配列できる金属イオンの種類を拡張するために、異なる金属選択性を有する新規金属配位子型ヌクレオシドをデザイン・合成し、金属錯体型塩基対の形成の評価を行った。デザインしたメルカプトピリドン型ヌクレオシド(**S**)は、金属配位部位としてソフトなドナーであるチオール基を有する

ため、すでに合成したヒドロキシピリドン型ヌクレオシド(**H**)と金属イオンの選択性に大きな違いを示すことが期待できる (図 3)。

ヌクレオシド **S** の合成ルートを Scheme 1 に示した。核酸塩基部位となる **2** は、4-メトキシピリジンの 3 位

に選択的に硫黄を導入することにより合成した。メトキシ基の脱メチル化ののち、 $\alpha$ -クロロリボースとのカップリングによりヌクレオシド骨格とし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより目的とする  $\beta$  アノマー **3** を単離した。アノマーの立体構造は、NOE スペクトルにより同定した。続いて水酸基およびチオール基を脱保護し、ヌクレオシド **S** を得た。

ヌクレオシド **S** の金属錯体型塩基対の形成は、紫外可視(UV-vis)吸収スペクトルによる滴定実験により評価した。ヌクレオシド **S** に対し徐々に Pd<sup>2+</sup>イオンを加えたところ、新たに 413 nm に可視吸収が現れた (図 4)。Pd<sup>2+</sup>イオンを **S** に対して 0.5 当量加えるまで、スペクトルは等吸収点を通りながら直線的に変化した。また、**S** : Pd<sup>2+</sup> = 2 : 1 の溶液の ESI-TOF マススペクトルを測定したところ、2 : 1 錯体(C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>Pd)に由来する  $m/z = 589.80$  ([M - e]<sup>+</sup>)のシグナル

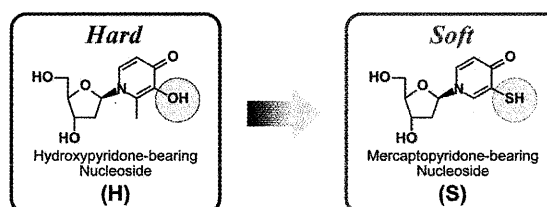
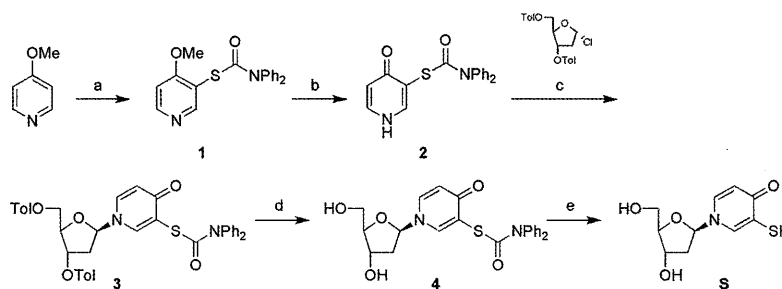


図 3 ソフトなドナーを配位部位に有するメルカプトピリドン型ヌクレオシド(**S**)



Scheme 1 (a) (i) PhLi, THF, -78 °C → 0 °C; (ii) S<sub>8</sub>, THF, -40 °C → -20 °C; (iii) Ph<sub>2</sub>NCOCI, THF, -78 °C → 0 °C, 55%; (b) TMSI, MeCN, reflux, quant.; (c) 1'- $\alpha$ -chloro-3',5'-di-O-toluoyl-2'-deoxyribose, *i*Pr<sub>2</sub>EtN, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 23%; (d) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, rt, 87%; (e) 28% NH<sub>3</sub>aq, DTT, 90 °C, 31%.

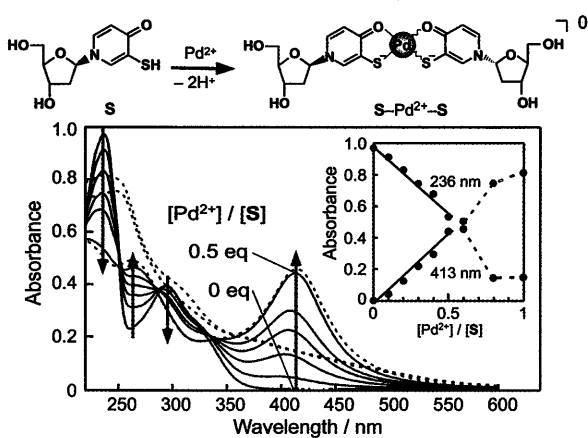


図 4 Pd<sup>2+</sup>イオンの添加によるメルカプトピリドン型ヌクレオシド(S)のUV-vis 吸収スペクトルの変化。([S] = 50 μM in 25 mM MOPS (pH = 7.0) at 25 °C, l = 1 cm.)

が観測された。以上から、ヌクレオシド **S** は Pd<sup>2+</sup>イオンと定量的に 2 : 1 錯体を形成し、**S-Pd<sup>2+</sup>-S** 塩基対を形成したことが示された。

Ni<sup>2+</sup>イオンの場合も同様に錯体形成が進行し、UV-vis 吸収スペクトルは 370 nm 付近にブロードな吸収が現れた。<sup>1</sup>H NMR による滴定実験、および ESI-TOF マススペクトルの測定により、0.5 当量の Ni<sup>2+</sup>イオンによる定量的な金属錯体型塩基対 **S-Ni<sup>2+</sup>-S** の形成が示された。

それぞれの金属錯体型塩基対は **H-Cu<sup>2+</sup>-H** 塩基対(310 nm)に比べ長波長側に吸収を持つため、DNA 二重鎖内での異種金属イオン配列化における位置選択性を、UV-vis 吸収スペクトルにより明確に評価することが可能である。

すでに報告しているヌクレオシド **H** は、この濃度では Pd<sup>2+</sup>イオンおよび Ni<sup>2+</sup>イオンとは定量的に錯体形成しないため、**S** と **H** の組み合わせにより位置選択的な異種金属イオンの集積化が期待された。そこで、ヌクレオシド **H** とヌクレオシド **S** の競合実験を行い、金属イオン選択性について評価した。**H** : **S** : Pd<sup>2+</sup> : Cu<sup>2+</sup> = 1 : 1 : 0.5 : 0.5 の比率で混合した溶液は、**H-Cu<sup>2+</sup>-H** 塩基対と **S-Pd<sup>2+</sup>-S** 塩基対の吸収スペクトルの和と同様のスペクトルを示し、**H** と **S** が良好な金属イオン選択性を有していることが示された。よって、この 2 種類の金属配位子型ヌクレオシドを人工 DNA 内に導入することにより、ヘテロな金属イオンを位置選択的に配列化できると考えられる。

## 【結論】

本研究では、複数の種類の金属配位子型ヌクレオシドを導入した人工 DNA を用いて、その配列情報をテンプレートとして、デザインした数や配列で複数・異種の金属イオンを定量的に集積化できることを見出した。さらに、ソフトな金属イオンと金属錯体型塩基対を形成する新規人工ヌクレオシドを合成し、塩基対の形成挙動について評価し、人工 DNA 内に集積できる金属イオンの種類を拡張できることが示された。この方法論に基づけば、さまざまな種類の金属イオンを任意の順序で一次元的に集積できると考えられるため、精密なデザインに基づく機能性集積型金属錯体の構築や分子デバイスへの展開が期待できる。