

学位論文の要約

題目 Investigating Advanced Properties of Modular DNAs as Biohybrid Catalyst and Aptamer

(高度な特性を有するモジュラーDNA のバイオハイブリッド触媒及びアプタマーとしての応用)

氏名 廉 知恵

0. Introduction

DNA は特有の相補性と自己組織化という性質を持つ天然の素材であり、近年の研究で DNA の触媒作用が報告され注目を集めている。さらに、DNA 固相合成法により様々な機能性分子を導入することで、DNA の性能を向上させると共に新しい物性を付与することが可能である。例えば、配位子骨格を組み込んだ DNA は金属イオンへの配位能が上昇し、化学反応における触媒能が向上する。このような化学修飾によって構築されたモジュラーDNA は多様な機能を持った生体分子として幅広い応用が期待される。アミノ酸は酵素の構成分子であり優れた特徴をもつことから、機能性 DNA の構築のための有用なモジュールとして考えられている。本研究では、様々な機能性分子で修飾したモジュラーDNA を創製しバイオハイブリッド触媒やDNA アプタマーとしての応用を報告し、修飾核酸のモダリティを広げた。

1. Modular quadruplex–duplex hybrids as biomolecular scaffolds for asymmetric Michael addition reactions

(モジュラー四重鎖-二重鎖ハイブリッドの生体分子スカフォールドとしての不斉マイケル付加反応への応用)

DNA は多様な高次構造を持ち化学的に安定であるという利点から、DNA の不斉らせん構造を利用した不斉合成が盛んに行われている。これまでに二本鎖 DNA を用いたバイオハイブリッド触媒が優れた触媒能を達成しており、他の高次構造をとる DNA (非標準型 DNA) を足場とする不斉触媒の開発が進められている。グアニン四重鎖 (G4) は溶液組成によって二次構造が変化する性質をもち、化学反応の立体選択性を制御可能なキラルモチーフとして多く利用されてきた。本研究では、不斉マイケル付加反応における四重鎖-二重鎖 (QD) ハイブリッド構造をとるモジュラーDNA の触媒能を評価し、その結果を報告する。まず、足場である QD ハイブリッド DNA の NMR 構造から反応場を特定し、その配列に合成した

機能性分子（ビピリジン配位子やウレア誘導体など）を導入した。そのあと、モジュラーQDハイブリッドDNAの二次構造、熱安定性、金属結合能を分光法により解析した。その結果、モジュラーQDハイブリッドは化学修飾による影響を受けず、非常に安定なアンチパラレル型のG4構造を形成することがわかった。次にQDハイブリッド触媒を不斉マイケル付加反応に適用し、ウレア誘導体を導入することで高い収率と立体選択性で生成物を得ることに成功した（収率86%、立体選択性76%）。これらの結果からウレア誘導体の優れた基質配位能を見出し、新たな型式のDNAハイブリッド触媒を提案した。

2. Systematic Approach to DNA Aptamer Design Using Amino Acid–Nucleic Acid Hybrids (ANHs) Targeting Thrombin

(トロンビンを標的としたアミノ酸-核酸ハイブリッド(ANH)を利用したシステムティックなDNAアプタマー設計と評価)

DNAアプタマーはバイオマーカーとなるタンパク質と特異的に結合するオリゴヌクレオチドであり、疾患の早期診断や治療に応用されている。さらに、天然のDNA/RNAアプタマーを化学的に修飾することでその機能を大幅に向上させることができる。本研究では、DNAにアミノ酸残基を組み込む新たな方法を考案し、これらのアミノ酸コンジュゲートを「アミノ酸-核酸ハイブリッド (ANH)」と名付けた。DNAにANHを導入することで、核酸本来の性質に加え、アミノ酸の優れた特性も認められた。本研究では、DNAアプタマーにANHを導入することにより、その結合能および標的タンパクへの選択性の変化を調べた。修飾を行うDNAアプタマーとしてはその構造や機能がよく知られているトロンビン結合DNAアプタマー (TBA15) を選択した。モジュール戦略でターゲット結合に影響を与える箇所にANHを組み込み、修飾TBA15のライブラリを構築した。トロンビンに対する結合能及びヒト血液サンプルに対する抗凝固能を測定した結果、特定の位置に疎水的なアミノ酸残基(フェニルアラニン残基)を導入した修飾DNAアプタマーは未修飾のものとは比べ、結合定数 (K_D) にして2.5倍の結合能と3倍の抗凝固能を示した。さらに分子モデリングや他の生化学実験から抗凝固能の差異を支持する結果が得られた。本研究で開発した修飾DNAアプタマーは従来のものより非常に優れた性能をもつため、バイオメディカル領域への応用が期待される。