

氏 名	森 井 孝 <small>もり い たかし</small>
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	工 博 第 1012 号
学位授与の日付	昭 和 63 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 項 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 合 成 化 学 専 攻
学位論文題目	Chemical Approach to the Molecular Mechanisms of DNA Strand Cleavage by Bleomycins (ブレオマイシンによるDNA鎖切断機構に関する有機化学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 松 浦 輝 男 教 授 伊 藤 嘉 彦 教 授 庄 野 達 哉

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、制ガン性抗生物質ブレオマイシンによる塩基配列特異的な DNA 認識機構及び DNA 鎖の酸化切断反応を分子レベルで解明することを目的として有機化学的研究を行なった結果をまとめたもので、序章と本論 6 章とからなる。

序章では、本研究の背景としてブレオマイシンと DNA との反応について概観し、小分子と DNA の相互作用を解明することの重要性を指摘している。また章末で本研究の結果を簡単にまとめている。

第 1 章では、ブレオマイシンによる DNA 鎖の酸化的切断反応において糖部 4'-ヒドロペルオキシ体が中間体となり得ることを示している。モデル化合物として 4'-ヒドロペルオキシチミジン誘導体を合成し、緩衝溶液中分解反応を行なって、ブレオマイシンと DNA の反応生成物のチミニルプロペナルが高収率で生成することを示している。さらにこのモデル化合物を用いて糖部の 4'-ヒドロキシ体が、嫌気条件でのブレオマイシンによる DNA 鎖切断の中間体となり得ることを示している。

第 2 章では、合成オリゴヌクレオチドを基質として用いたコバルト-ブレオマイシンによる光 DNA 鎖切断反応の生成物を液体クロマトグラフィー (HPLC) により詳しく解析し、光照射による DNA 鎖切断反応が 4'-ヒドロキシ中間体を経ていることを示している。また、コバルト-ブレオマイシンによる光 DNA 鎖切断反応の主なる活性種がコバルト(III)-ブレオマイシン-ヒドロペルオキシ錯体であることを実験的に示している。

第 3 章では、ブレオマイシン中の DNA 相互作用部位と目される 2,4'-ビチアゾール環が 4,4'-ビチアゾール環に光異性化したフォトブレオマイシンの生成が述べられている。ブレオマイシン-銅(II)錯体を光照射した後、HPLC によりフォトブレオマイシンを単離し、NMR 等のスペクトル解析とモデル光反応から構造を決定している。末端を³²P で標識した DNA を用いて切断反応を解析した結果、フォトブレオマイシンはブレオマイシンと同一の塩基配列を認識して DNA を切断することを明らかにした。

第 4 章では、上の光反応をビチアゾールのモデル化合物を用いて検討し、光異性化反応が環選択的に起

こることを示している。2,4'-ビチアゾール環は光反応により 4,4'-ビチアゾール環を主生成物として生じ、副生成物として 3-(4-チアゾリル) イソチアゾールが生成する。この光異性化反応の環選択性は、SCF-INDO 法により計算した LUMO の結合次数を二つのビチアゾール環について比較することにより説明されている。

第5章では、光反応の制御により得られたルミプレオマイシンの構造を決定し、この光異性体もプレオマイシンと同一の塩基配列を認識して DNA を切断することを示している。銅(II)イオンが5当量存在するときのプレオマイシンの光反応では、チアゾリルイソチアゾール環に光異性化したルミプレオマイシンが主生成物として得られることを見出している。また、プレオマイシン、フォトプレオマイシン、ルミプレオマイシンが同一の塩基配列特異的な DNA 鎖切断をするという実験事実から、ビチアゾール及びその光異性化した環系の窒素原子が塩基配列特異的な DNA の認識に重要な役割をはたすという仮説を提唱している。

第6章では、前章で提唱した仮説を裏付ける実験として、グアニン残基を修飾した合成オリゴヌクレオチドを用いたプレオマイシンによる切断反応を解析している。即ち、グアニンをイノシンに置換すると、その位置ではプレオマイシンによる切断反応の効率が大幅に減少することから、プレオマイシンによる DNA 鎖の 5'-グアニン・ピリミジン-3' という塩基配列認識は、グアニン残基の 2-アミノ基とビチアゾール環上の窒素原子との相互作用が大きく寄与していることを明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

プレオマイシンは鉄(II)イオンと酸素の存在下活性酸素種を発生して DNA 鎖を酸化的に切断することが知られている制ガン性抗生物質であって、5'-グアニン・ピリミジン-3' なる DNA の特定塩基配列を認識するという特異性を持っている。従って、この切断反応の機構を解明することは、新しい制ガン剤の合成設計や選択的な DNA の切断試薬(人工制限酵素)の開発への道を開くことになる。本論文の著者はこのプレオマイシンの作用機構の解明という目的に沿って、種々のモデル系を用いて DNA の切断反応を解析し、以下に述べるような新しい知見を得た。

1. プレオマイシンによる DNA 鎖切断反応の中間体と考えられていたデオキシリボース部の 4'-ヒドロペルオキシ及び 4'-ヒドロキシ体のモデル化合物として 4'-ヒドロペルオキシチミジン誘導体などを合成し、それらの分解反応の解析結果から上記中間体を経る反応機構の妥当性を実験的に確認した。

2. 鉄(II)イオンの代わりにコバルト(II)イオンを用いたときには、プレオマイシンによる DNA 鎖の切断に光照射が必要であるが、この反応を合成オリゴヌクレオチドを用いて精査した結果、4'-ヒドロキシン中間体を経て切断反応が起ることを明らかにした。

3. プレオマイシン-銅(II)錯体を光照射すると、フォトプレオマイシンとルミプレオマイシンの2種の光異性体が生成することを見出し、これらがプレオマイシンの 2,4'-ビチアゾール環がそれぞれ 4,4'-ビチアゾールと 3-(4-チアゾリル) イソチアゾールに原子価異性化した構造をもつことを明らかにした。

4. 上記フォトプレオマイシン及びルミプレオマイシンによる DNA 鎖切断反応を DNA や合成オリゴ

ヌレオチドを用いて精査し、ブレオマイシンと同じ塩基配列特異性で切断反応が起ることを見出した。その結果、ピチアゾール及びその光異性化した環系の窒素原子がグアニン残基の2-アミノ基と相互作用することによって、ブレオマイシンがDNAを塩基配列特異的に認識するという仮説を提案した。

5. グアニン残基の代わりに2-アミノ基を持たないイノシン残基を含む合成ヌクレオチドを用いると、ブレオマイシンによるその位置での切断反応が著るしく抑制されることを明らかにし、上の仮説を実験的に裏付けた。

以上を要するに、本論文はブレオマイシンによるDNA切断反応の機構の研究に新しい有機化学的手段を導入し、従来提案されていた機構の実験的確認や新しい機構の提案などこの分野の研究に重要な知見を加えたもので、学術上、實際上寄与するところが少ない。よって、本論文を工学博士の学位論文として価値あるものと認めた。

また昭和63年2月22日論文内容とそれに関する事項について試問を行なった結果、合格と認めた。