

氏 名	はる な けん いち 春 名 健 一
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2686 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 物 質 エ ネ ル ギ ー 化 学 専 攻
学位論文題目	Regulation and Evaluation of Long Distance One-Electron Oxidation in DNA by Anthraquinone-Photoinjected Hole (光励起アントラキノンが注入した正孔による DNA 分子内長距離一電子酸化 の制御および評価)
論文調査委員	(主 査) 教 授 西 本 清 一 教 授 垣 内 隆 教 授 大 江 浩 一

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、アントラキノン（AQ）の光一電子酸化反応性に着目し、DNA 鎖末端に導入した AQ 置換基の光励起により DNA 二重鎖内のグアニン塩基部位に注入されたラジカルカチオン（正孔）の長距離移動の可逆的な ON-OFF 制御，ならびに抗腫瘍性プロドラッグとなる AQ 置換プロバルギルスルホン化合物の分子設計，DNA 結合能および光誘起 DNA 切断活性の評価に関する結果を，それぞれまとめたものであり，序論，本論 5 章から成っている。

序論は，DNA 二重鎖内におけるグアニン塩基の一電子酸化反応とラジカルカチオンの長距離移動（正孔移動）について，DNA の構造特性との関係を論じつつ，反応機構，材料応用，および医学応用に関する研究を概観した上で，本論文を構成する各章の研究課題を位置づけ，その背景と目的を示している。

第 1 章では，チオール修飾 DNA 鎖を金電極上に固定化し，AQ 置換 DNA 鎖とのハイブリッド化により二重鎖を，さらに二重鎖と短鎖オリゴ DNA との会合により三重鎖を形成させ，これらの DNA 二重鎖内に生じる光電流を直接計測し，光励起 AQ 基により DNA 二重鎖内に注入された正孔が長距離を移動すること，正孔移動は三重鎖形成により抑制されること，その抑制効果は三重鎖領域の鎖長と形成部位に依存すること，および温度の昇降に伴う二重鎖と三重鎖の間の可逆的なハイブリッド構造変化に応じて光電流値が可逆的に変動することを実証し，DNA 二重鎖内の正孔移動を可逆的に ON-OFF 制御する方法を示した。

第 2 章では，第 1 章において見いだした温度の昇降に伴う二重鎖と三重鎖の間の構造変化による DNA 二重鎖内正孔移動の可逆的制御法を拡張し，AQ 置換 DNA 鎖を含む DNA 二重鎖に対して，鎖長の異なる 2 種類のオリゴ DNA がそれぞれ塩基配列特性に応じて 2 つの領域で三重鎖を形成する実験系を構築した。この実験系において，AQ 基の光励起を通じて注入した正孔の移動による DNA 分子内グアニン連続配列部位における一電子酸化反応を DNA 鎖切断頻度から定量比較した結果，温度の昇降により二重鎖のみの系，1 領域で三重鎖を形成した系，および 2 領域で三重鎖を形成した系が生じることを確認するとともに，各温度領域における三重鎖形成に応じて正孔移動が抑制されることを明らかにし，任意の位置で DNA 分子内の正孔移動を制御し得ることを示した。

第 3 章では，短鎖オリゴ DNA との会合による DNA 三重鎖形成が酸性条件下で起こりやすく，中性および塩基性条件下では短鎖オリゴ DNA が解離しやすい特性を応用し，pH 変化に応じた二重鎖と三重鎖の間の構造変化を利用した DNA 分子内正孔移動の可逆的制御を試みた。正孔移動によるグアニン連続配列部位における DNA 鎖切断頻度の定量および光電流測定により比較評価した結果，第三鎖が存在しない場合は pH 変化に関係なく正孔移動効率は一定であるのに対し，第三鎖が存在した場合には pH 変化による三重鎖構造の形成および解離を通じて，DNA 分子内正孔移動を可逆的に制御し得ることを示した。

第 4 章では，光照射により DNA 鎖の切断活性を増幅し得る抗腫瘍性プロドラッグの開発を目的として，DNA 切断活性をもつプロバルギルスルホン（PS）化合物に AQ 置換基を導入した。この AQ 置換 PS 化合物は，プロバルギル部位の転

位を経て生じるアレン部位がDNA鎖内のグアニン塩基をアルキル化してDNA鎖の切断を誘起すること、およびDNA二重鎖にインターカレーションした際のアレン部位がDNA二重鎖内のグアニン塩基に近接するような空間配置をとる場合にDNA切断反応が効率よく進行することを明らかにした。また、光照射を併用した場合、励起AQがDNA二重鎖内のグアニン塩基を一電子酸化し、DNA切断活性を著しく増大させることを示した。

第5章では、第4章で得られた知見を基に、スルホン部位に直結する位置にAQ置換基を導入したPS化合物を合成した。このAQ置換PS化合物は、従来のPS化合物と比較して、高いインターカレーション能、プロパルギル部位由来のアルキル化反応性、およびAQ置換基由来の光一電子酸化反応性を示すとともに、これらの特性を反映して著しく高いDNA鎖切断活性を示すことを明らかにした。また、MTT法を用いた細胞毒性評価により、強い細胞毒性を示すことを確認した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、アントラキノン（AQ）の光一電子酸化反応性に着目し、DNA鎖末端に導入したAQ置換基の光励起によりDNA二重鎖内のグアニン塩基部位に注入されたラジカルカチオン（正孔）の長距離移動の可逆的なON-OFF制御、ならびに抗腫瘍性プロドラッグとなるAQ置換プロパルギルスルホン化合物の分子設計、DNA結合能および光誘起DNA切断活性の評価に関する結果を、それぞれまとめたものであり、主な成果の概要は以下の通りである。

(1) チオール修飾DNA鎖を金電極上に固定化し、AQ置換DNA鎖とのハイブリッド化により二重鎖を、さらに二重鎖と短鎖オリゴDNAとの会合により三重鎖をそれぞれ形成させて光電流を直接計測し、光励起AQ基によりDNA二重鎖内に注入された正孔が長距離移動すること、正孔移動は三重鎖形成により抑制されること、および温度の昇降に伴う二重鎖と三重鎖の間の可逆的なハイブリッド構造変化に応じて光電流値が可逆的に変動することを実証し、DNA二重鎖内の正孔移動を可逆的に制御する方法を示した。

(2) AQ置換DNA鎖を含むDNA二重鎖に対し、鎖長の異なる2種類のオリゴDNAが鎖長に応じて2つの領域で三重鎖を形成する実験系を構築し、光励起AQ基が注入した正孔の移動によるDNA分子内グアニン連続配列部位における一電子酸化反応をDNA鎖切断頻度から定量比較した結果、温度降下により二重鎖のみの系、1領域で三重鎖を形成した系、および2領域で三重鎖を形成した系が生じるとともに、AQ置換基から離れた位置のグアニン連続配列部位ほど一電子酸化反応が抑制されることを明らかにし、任意の位置でDNA分子内の正孔移動を制御し得ることを示した。

(3) 短鎖オリゴDNAとの会合によるDNA三重鎖形成は酸性条件下で起こりやすく、中性および塩基性条件下では短鎖オリゴDNAが解離しやすい特性を応用し、pHを変化させることにより、二重鎖と三重鎖の間の構造変化に応じて、DNA分子内正孔移動を可逆的に制御し得ることを明らかにした。

(4) 光照射によりDNA鎖の切断活性を増幅し得る抗腫瘍性プロドラッグの開発を目的として、AQ置換基を導入したプロパルギルスルホン（PS）化合物を合成した。このプロドラッグは、プロパルギル基の転位を経て発生するアレン基がDNA鎖内のグアニン塩基をアルキル化してDNA鎖の切断を誘起すること、およびAQ置換部位がDNA二重鎖に対して高いインターカレーション機能を示すためにDNA鎖切断活性が増大すること、光照射下では励起AQがDNA塩基の一電子酸化反応を誘起し、DNA切断活性をさらに増大させることを明らかにした。

以上のように、本論文は光励起アントラキノンがDNA二重鎖に注入した正孔の分子内長距離移動によるグアニン塩基の一電子酸化反応機構を明らかにし、三重鎖形成特性を活用した正孔移動の制御法を確立するとともに、DNA切断活性を示すプロドラッグの開発に関して有用な知見を得ており、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成18年3月20日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。