

氏 名	はぎ 萩 原 伸 也
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2289 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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 合 成 ・ 生 物 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Molecular Recognition of Mismatched DNA and Site Selective DNA Oxidation (DNA ミスマッチ構造の分子認識と位置特異的酸化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 齋 藤 烈 教 授 青 山 安 宏 教 授 村 上 正 浩

論 文 内 容 の 要 旨

DNA は局所的に様々な高次構造をとることが知られ、生物学的に重要な働きを担っていることが示唆されている。生物学的意義の蓄積につれ、局所高次構造に特異的に結合する小分子に注目が集まっている。このような分子は DNA 構造プロープ、効果的な阻害剤、さらにはアンチセンス剤として様々な応用が期待される。本論文は DNA の局所高次構造を選択的に認識するリード化合物の分子設計について纏めたものであり、序章と 6 章からなっている。

序論では、分子生物学の発展とともに近年飛躍的に進歩した DNA 塩基配列認識分子の設計に関する最近の研究の背景が纏められている。

第 1 章では、G-T ミスマッチ構造を選択的に認識するリード化合物の設計に関して述べられている。グアニンと相補的な水素結合パターンを持つ 2-アミノナフチリジンと、チミンと相補的な水素結合パターンを持つヒドロキシミノアザキノリンの複合分子を設計・合成し、G-T ミスマッチを特異的に認識することに成功した。

第 2 章では、ナフチリジンと様々なヘテロ芳香族との複合分子を合成し、G-X(X=G, A, T) ミスマッチへの結合力を評価した結果について述べられている。G-G ミスマッチに強く結合し、G-A ミスマッチ、G-T ミスマッチにもある程度結合するナフチリジンダイマーの片側のナフチリジンを 2,8-ジアミノナフチリジン、2-アミノピリジン、2,6-ジアミノピリジン、2-アミノ-7-メチルピリジン、2-アミノキノリンに置換したところ、G-G、G-A、G-T 全てのミスマッチに対する結合力が減少した。一方、2-アミノナフチリジン・8-アザキノロン複合分子(Npt-Azq)は、G-A ミスマッチ DNA をより強く安定化することを見いだした。さらに、構造活性相関の結果から、水素結合パターンと芳香環の面積が結合の強さと選択性に大きく関与していることを明らかにした。

第 3 章では、2-アミノナフチリジン・8-アザキノロン複合分子の A-A ミスマッチへの結合に関して述べられている。5'-CAG-3'/3'-GAC-5' 配列に対して Npt-Azq が特異的に結合することを見いだした。Npt-Azq の A-A ミスマッチに対する結合を解析したところ、二分子の Npt-Azq が二つの A-A ミスマッチサイトに結合する事がわかった。G-G ミスマッチに強く、G-A、G-T ミスマッチに対して中程度に結合するナフチリジンダイマーと A-A ミスマッチに強く、G-A、G-G ミスマッチに中程度に結合する Npt-Azq を組み合わせると全ての SNP の検出が可能となる。

第 4 章では、2-アミノナフチリジン・8-アザキノロン複合分子が、CAG 三塩基反復配列へ強く結合することについて述べられている。CAG 反復配列は遺伝的に不安定であり、異常に伸長することによりハンチントン病を発症する。CAG 反復配列は A-A ミスマッチを含んだヘアピン構造を形成しやすく、このヘアピン構造に強く結合する Npt-Azq はハンチントン病を遺伝的に診断し治療する上で非常に有効なツールとなることが期待される。

第 5 章では、ナフチリジンダイマーの結合によるヒテロメア配列の構造変化とテロメアーゼによる伸長反応の阻害について述べられている。ナフチリジンダイマーがヒテロメア配列に対してその初期構造(四本鎖、二本鎖、一本鎖)にかかわらず強く結合し、G-G ミスマッチを含む二本鎖構造に変化させることを見いだした。これはナフチリジンダイマーによ

る G-G ミスマッチの安定化が非常に強いので、テロメアに多く含まれる G が G-G ミスマッチを形成したヘアピン構造を形成しているものと考えられる。さらに、ナフチリジンダイマーはテロメアーゼの伸長反応を阻害するので、新しい抗ガン剤のモチーフとしても期待がもたれる。

第 6 章では、DNA 中で標的とするチミンのみを特異的に酸化できる手法の開発に関して述べられている。DNA が二本鎖を形成する際の配列選択性を利用して位置選択的に配位子を存在させ、四酸化オスmiumにより標的とするチミンを特異的に酸化することに成功している。この手法により、DNA 中の任意の位置にチミングリコールを導入することが可能となった。

論文審査の結果の要旨

DNA の特異構造を認識する機能性分子は、DNA 構造のプロープとして、また、次世代の遺伝子診断薬としても大きな期待が寄せられている。本論文は、DNA ミスマッチ構造を精密に認識する分子の設計に成功した結果を纏めたもので、得られた成果は以下の通りである。

1. ナフチリジン・ヒドロキシイミノアザキノリン複合分子が G-T ミスマッチに結合することを見いだした。小分子によるミスマッチ認識において、水素結合パターンが重要な役割を担う事も示した。

2. 2-アミノナフチリジン・8-アザキノロン複合分子が、G-A ミスマッチ含有 DNA を強く安定化することを見いだした。さらに、構造活性相関から、水素結合パターンと芳香環同士のスタック面積が結合の強さと選択性に大きく関与している事を示した。

3. 2-アミノナフチリジン・8-アザキノロン複合分子が 5'-CAG-3'/3'-GAC-5' 配列に特異的に結合することを見いだした。

4. ナフチリジン 2 量体がヒトテロメア配列に対して強く結合し、G-G ミスマッチを含む二本鎖構造に変化させることを見いだした。さらに、テロメアーゼの伸長反応を阻害するため、新しい抗ガン剤のモチーフとしても期待がもたれる。

5. チミンが複数存在する DNA 中で、標的とするチミンのみを特異的に酸化できる実験手法の開発に成功した。

以上、本論文はミスマッチ構造を精密に認識する機能性分子の設計とその応用に関する研究を纏めたもので学術上、実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15年2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。