

|          |                                                                                                                                          |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名      | ユハ ミカエル リントルト<br><b>Juha Mikael Lintuluoto</b>                                                                                           |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (工 学)                                                                                                                                |
| 学位記番号    | 工 博 第 1638 号                                                                                                                             |
| 学位授与の日付  | 平成 9 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   | Self-organization and Dynamic Molecular Recognition of Nucleoside Derivatives through Hydrogen Bonding<br>(水素結合を介するヌクレオシド誘導体の自己組織化と分子認識) |
| 論文調査委員   | (主 査)<br>教授 生越久靖 教授 齋藤 烈 教授 田中渥夫                                                                                                         |

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、生体情報を掌る DNA 構成単位である核酸およびオリゴヌクレオチドの水素結合を介した相互作用を調べるためにヌクレオシド誘導体を合成し、その自己組織化と核酸塩基間との特異的な相互作用を主として核磁気共鳴法を用い熱力学的挙動を解明した研究成果をまとめたものであり、序論及び 4 章からなっている。

序論においては、分子の構造に柔軟性を賦与した人工レセプターの事前自己組織化と核酸塩基の認識機能発現に関する研究の背景とその成果を記述している。

第 1 章では、柔軟なアルキル鎖で結合された 2 つのウラシル基をもつ新しいタイプの人工受容体の合成を行い、その非極性溶媒中における核酸塩基誘導体の認識の挙動を検討している。本人工受容体はアデニンに対して高い結合を示し、特にプロトン核磁気共鳴による測定により 2 つのウリジン基が分子間水素結合で環化した closed form と自由な状態の open form 2 つの状態間に平衡が存在することを立証した。アデニン誘導体とレセプター間の 3 重水素結合による錯体形成の熱力学的パラメーターについては、closed form は open form に比して、エントロピー的に不利であるが、エンタルピー的に有利な分子認識過程であり、特に高温領域ではエントロピー変化の小さい closed form の分子認識が有利であることが明らかとなった。

第 2 章では、認識部の 2 つのウラシル基を連結するアルキル基鎖長を変化させた種々の人工受容体とアデニン誘導体との錯体形成について検討している。closed form では、アルキル基の長さが大幅に変化しても受容体の 2 つの状態間のエンタルピー、エントロピー変化は小さく、認識部の周辺の構造の変化は殆どない。これら柔軟な構造をもつ新規人工受容体は特にアデニン塩基に対して大きな選択性を示し、他のチミン、シトシン、グアニン等の DNA 塩基に対して殆ど錯体形成を示さない。生体系において、柔軟な構造をもつ受容体の基質に対する有効な分子認識能の発現において事前自己組織化が重要であることを示唆している。

第3章では、非極性溶媒中、シチジン誘導体(C)の水素結合能力について核磁気共鳴法及び光散乱法による検討を行った。シチジン塩基の3位の窒素にプロトンが特異的に付加した $\text{CH}-\text{C}^+$ 型の錯体を生成し、通常のCG塩基対よりも安定な対を形成していることが判った。シチジンに対して半等量のプロトンが付加したシチジンの塩基対の錯体形成定数は大きい、等量のプロトン付加は錯体が解離してプロトンの付加した単量体を形成する。動的光散乱の測定はシチジンはプロトン付加によりクロロホルム中で大きな集合体を形成し、かつこの挙動は濃度依存性を示す。これは複数の $\text{CH}-\text{C}^+$ の集合によりさらに大きな組織体の形成の可能性を示唆している。

第4章では、Electrospray ionization mass spectrometry(ESI-MS)による塩基対生成の検討結果を論じている。ESI法における陽イオン化モードでは、通常電場による分子のイオン化及びプロトンの付加によって生成する正電荷種も安定に検出され、また、液滴中にある分子がイオン化された後完全に脱溶媒和されるために、気相中における錯体の安定性を反映したスペクトルが得られる。ESI条件下では、シチジン塩基は $\text{CH}-\text{C}^+$ 型の2量体の大きなピークが観測されるとともに、単量体、3量体、4量体に対応する弱いピークも見られる。この結果は、 $\text{CH}-\text{C}^+$ 型の2量体は気相中で安定であり、さらに中性シチジンも効率的に生成していることを示している。また、2つのシチジン塩基部を連結した(C~C)では、分子内で相互作用した $(\text{CH}-\text{C})^+$ 型の錯体の生成が主であることを示している。グアニンの共存下では、DNA 3重螺旋中で安定とされる $(\text{CGH}-\text{C})^+$ 型の錯体も検出され、ESI-MSが気相中における水素結合生成能に基づく錯体形成の新しい情報を与えることを明らかにした。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、生体情報を掌るDNAの構成単位である核酸およびオリゴヌクレオチドの水素結合を介した相互作用を調べるためにヌクレオシド誘導体を合成し、その自己組織化と核酸塩基間の特異的な相互作用の分光学的研究とその熱力学的研究を行った結果をまとめたもので、得られた主な成果は次の通りである。

1. 柔軟なアルキル鎖で結合された2つのウラシル基をもつ新しいタイプの人工受容体の合成を行い、核酸塩基とHoogsteen型の錯体を形成し、分子内水素結合により自己-事前構成された環状受容体は非環状受容体に比してエントロピー的に極めて有利であることを証明した。
2. 2つのウラシル基を連結するアルキル鎖長を大幅に変化させても、環状受容体と塩基の錯体形成に伴うエンタルピー変化及びエントロピー変化に大きな差異はなく、ウラシル塩基近傍は共通した構造を有する。人工受容体はアデニン基をもつヌクレオシドに対して高選択的に結合することを見出した。
3. 非極性溶媒中、シチジン塩基の3位の窒素にプロトンが付加すると容易にプロトン化された2量体が生成し、通常のCG塩基対よりも安定な対を形成していることを見出した。シチジンに対して半等量のプロトンが付加したシチジンの塩基対の錯体形成定数は大きい、等量のプロトン付加を行うと、錯体が解離してプロトンの付加した単量体を形成することを明らかにした。
4. Electrospray ionization mass spectrometry(ESI-MS)により塩基対生成を検討し、陽イオン化モードでは、通常電場による分子のイオン化及びプロトンの付加によって生成する正電荷種も安定に検出さ

れ、気相中における水素結合生成能に基づく錯体形成の新しい情報を与えることを明らかにした。

以上要するに、本論文は合成化学的及び物理化学的手法を用いて、核酸塩基誘導体の多点水素結合を介した自己組織化と事前構成により分子認識過程を解明したもので、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9年2月24日、論文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。