

氏 名 曹 紅 花

学位（専攻分野） 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第490号

学位授与の日付 平成12年9月29日

学位授与の要件 数物科学研究科 機能分子科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 配位結合により塩基対を形成する人工カテコール型

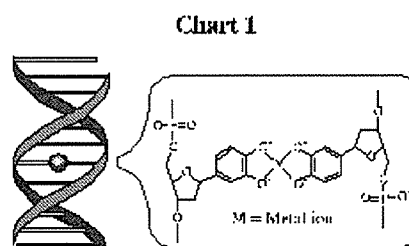
ヌクレオシドの合成と機能化

論文審査委員 主査 教授 薬師 久彌
教授 魚住 泰広
教授 藤井 正明
助教授 井上 克也
教授 小田嶋 和徳（名古屋市立大学）
教授 塩谷 光彦（東京大学）

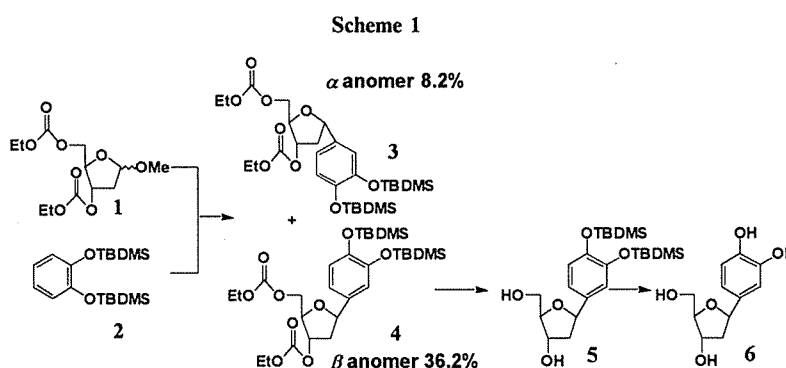
論文内容の要旨

Biomacromolecules such as protein and nucleic acid are excellent functional molecules, which play crucial roles in the vital functions in biological system in an accurate and well-controlled manner. Owing to recent developments in organic synthesis and biotechnology, it has become feasible to chemically modify these molecular structures at the molecular level.

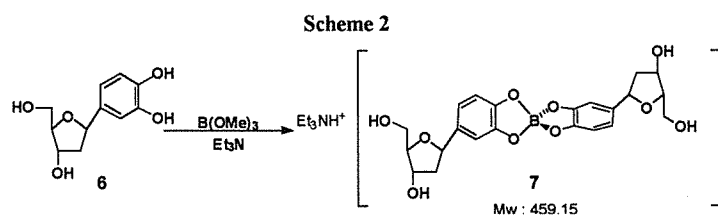
An alternative approach she has used for the reconstruction of DNA is the direct modification of nucleobases by incorporating metal-chelating nucleobases into DNA strands. In this artificial DNA, hydrogen-bonded base pairing is replaced by metal-induced base pairing, thereby creating a novel hybridization motif in double-stranded DNA (Chart 1).



She has synthesized an artificial β -C-nucleoside **6** which have a catechol group as a nucleobase. This novel nucleoside was synthesized from a 2'-deoxyribose derivative **1** and *O*-protected catechol **2** via Friedel-Crafts coupling reaction to selectively afford the desired product β -C-nucleoside **4** in 36% yield. The following two-step deprotection procedures afforded the target β -C-nucleoside **6** (Scheme 1).



Catechol-bearing β -C-nucleoside **6** was treated with half amount of trimethyl borate and triethylamine in DMSO- d_6 , at room temperature to obtain 2:1 complex **7** between nucleosides and boron (III) (Scheme 2). The isotopically resolved ESI-TOF mass spectrum of this solution in the negative mode provided clear evidence for the 2:1 complexation between **6** and boron ion. The signal at m/z 459.15 [7 - Et_3NH^+] $^-$ gave excellent agreement between the experimental and theoretical isotopic distributions indicating the boron-assisted dimerization of **6**. 500 MHz ^1H NMR resonances from aromatic protons of the complex **7** in DMSO- d_6 were upfield-shifted from those of the nucleoside **6**, and the signals for hydroxy protons on the catechol moiety disappeared upon complexation, whereas those for the ribose moiety still remained. These results



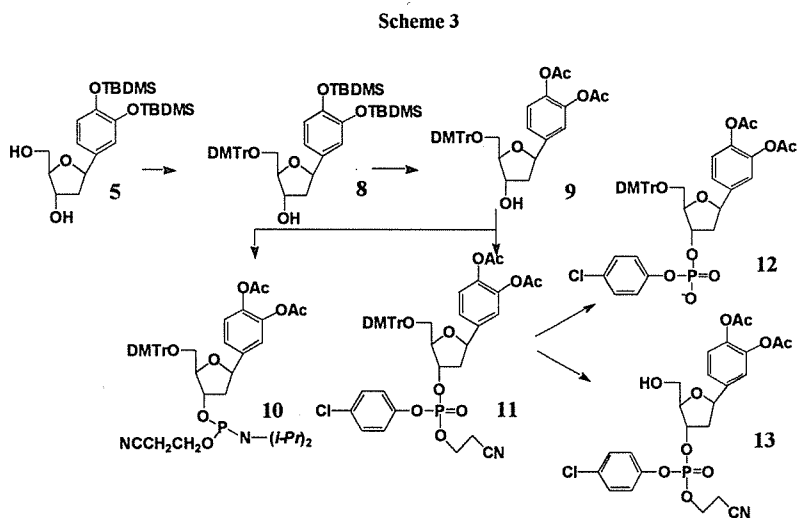
indicate that phenoxy groups coordinated to the boron (III) center, in the deprotonated form, that is to say a boron (III) ion promoted base pairing of **6**. Although there are two possible diastereomeric structures for the complex **7**, they only observed one set of proton signals for the complex **7** in the spectrum.

She then tried to incorporate a catechol-type β -C-nucleoside as a “chelator-nucleoside” building block into a DNA strand by means of a phosphotriester or a phosphoramidite approach. She synthesized phosphoramidite type **10** and phosphotriester-type **12**

and **13**, starting from compound **9** (Scheme 3), which can be used to introduce the catechol-type nucleoside into oligo-DNA.

This work demonstrates a novel base pairing mode assisted by borate formation, which would provide an alternative DNA base pair in addition

to other metal-assisted base pairs that have been developed in our group so far. This novel base pair at specific site of oligo-DNA would contribute to the development of new structural and functionalized super-biomolecules.



論文の審査結果の要旨

DNA は核酸塩基間の相補的な水素結合を会合力として、塩基対形成を行なっている。本研究では、水素結合に代わり、金属錯体形成を会合力とした、新しい塩基対モチーフを DNA 中に導入する事により、人工 DNA の創生を目指している。

核酸塩基として金属配位子となりうるカテコールを導入した、新規人工 β -C-ヌクレオシドを合成した。このヌクレオシドは、デオキシリボース誘導体と水酸基を保護したカテコールとの間のフリーデル-クラフツ縮合反応を鍵反応とし、立体選択的に合成する事ができた。このカテコール型人工ヌクレオシドは重 DMSO 中、 B^{III} イオンと 2:1 の錯体を形成し、水素結合ではなく、錯生成により塩基対を形成し得る事を明らかにした。また、フォスフォロアミダイト固相合成法および、リン酸トリエステル法を用いる事により、DNA オリゴマーシーケンス中へカテコール型ヌクレオシドを導入する事に成功した。さらに、カテコール型ヌクレオシドを含む 13 量体のオリゴヌクレオシドの二重鎖形成に及ぼす Cu^{2+} イオンの効果を検討した。

このように、本研究は、金属イオンによる遺伝子制御や DNA を用いた金属イオンの集積化を目指し、分子科学的な観点から遺伝情報物質である DNA に新規機能を付与するための新しい手法を提供している。

以上の研究成果は、2 報の学術論文としてまとめられている。本審査委員会では全員一致で、曹紅花氏の提出論文が学位を与えるに相応しいと判定した。

面接による試験は、出願者に学位論文の内容を約一時間で発表してもらい、その後、ヌクレオシドの設計および合成、錯生成に基づく塩基対形成の詳細を中心に一時間にわたって質疑応答を行ない、活発な議論が展開された。多面的な質問に対して的確に答えるとともに、今後の課題に対しても確固とした考えを持っていると判断された。本論文は日本語で書かれているが、本論文の英文要旨および、既に発表されている英文の論文を中心に英語力を審査し、語学力に問題はないと判定した。

公開発表における発表もよく整理されており、合格と認定した。