

氏 名 幡 野 明 彦

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第488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 金属イオンにより誘起される人工DNAの自発的集合化

論 文 審 査 委 員

主 査 教授	渡辺 芳人
助教授	鈴木 敏泰
助教授	藤井 浩
助教授	米満 賢治
教授	塩谷 光彦 (東京大学)
助教授	和田 健彦 (大阪大学)

## 論文内容の要旨

The self-assembly of noncovalently linked molecular clusters of unique building blocks has currently received considerable attention. In particular, “template-directed” approaches are becoming common and have been accepted promising for the construction of the ideally pre-designed assembly. One of the most appealing paradigms of self-assembly in biological system is sequence-specific association between two complementary nucleic acid strands, and such processes play essential roles in most genetic events. DNA oligonucleotides have been intensively used as templates for reaction control on the template such as self-replication of the guest DNA components.

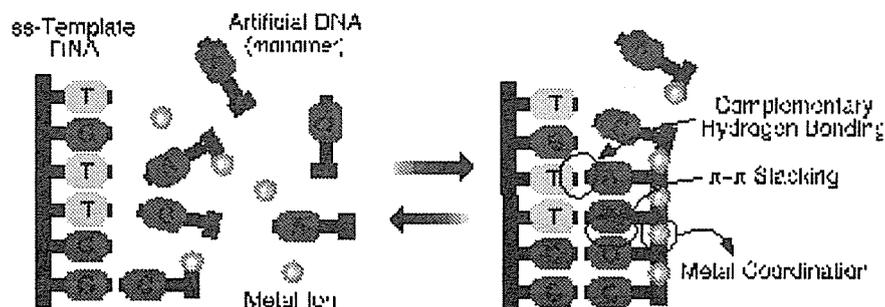
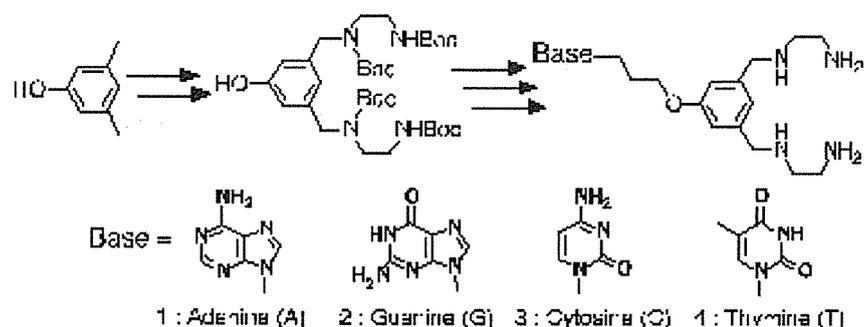


Chart 1. Our research concept.

As an approach to novel metal-assembled systems directed to a single-stranded DNA as the template (Chart 1), they have synthesized “chelator-type” nucleic acids mimics 1 - 4 (Scheme 1). Two metal binding sites and one nucleobase moiety were introduced into compound 1 - 4 so that they can undergo strand formation by intermolecular metal coordination thereby possibly interacting with a natural DNA strand through Watson-Crick base pairing.



Scheme 1.

Compound 1 was synthesized from 3,5-dimethylphenol, according to Scheme 1. The phenolic intermediate serves as a common intermediate for the introduction of each nucleobase at the phenolic position. Here they present the experimental data with respect to an adenine mimic 1. The adenine mimic 1 reacted with  $\text{Zn}^{\text{II}}(\text{NO}_3)_2$  in water to form  $\text{Zn}^{\text{II}}$  complex 2. The molecular structure of the  $\text{Zn}^{\text{II}}$  complex was characterized by single-crystal X-ray crystallography. Each ethylenediamine moiety binds to  $\text{Zn}^{\text{II}}$  to form a *trans*- $\text{N}_4$ -plane, and two water molecules at the axial positions complete the octahedral structure (Figure 1).

Adenine analogues **1** are intermolecularly linked together by Zn<sup>II</sup> ions that provide the driving force for polymerization by imposing an octahedral coordination geometry at each site. Although the Zn<sup>II</sup>-Zn<sup>II</sup> distance of 7.718 Å is rather longer than the average distance between adjacent phosphodiester groups in the same chain of B-DNA (ca. 6 Å), molecular modeling studies indicated that this complex is structurally flexible enough for complementary binding to a single-stranded natural DNA.

They then examined interactions of the Zn<sup>II</sup>-assembled adenine polymer with oligo (dT)<sub>70</sub> using UV absorption changes. Figure 2 shows the temperature-dependency of the absorption at 260 nm for a 1 : 1 mixture of Zn<sup>II</sup> complex and (dT)<sub>70</sub> ([Zn<sup>II</sup> complex] = [(dT)<sub>70</sub>] = 15 μM/base, 1 mM Mops buffer at pH 7.0) when the solution temperature was elevated from 0 °C to 80 °C. An absorption break was observed at 39 °C, and almost the same curve was obtained even when the temperature was changed downwardly. This behavior is common in the naturally occurring nucleic acids.

The Zn<sup>II</sup> complex thus preferably associates with a natural DNA oligomer probably through electrostatic and hydrogen bonding interactions accompanied by hydrophobic effects. Such artificially-designed nucleic acid components that can undergo metal-assisted assembly in a reversible fashion would provide novel molecular array systems directed to information-bearing DNA or RNA for applications not only to metallo-antisenses for gene regulation but also to molecular memory devices or molecular wires.

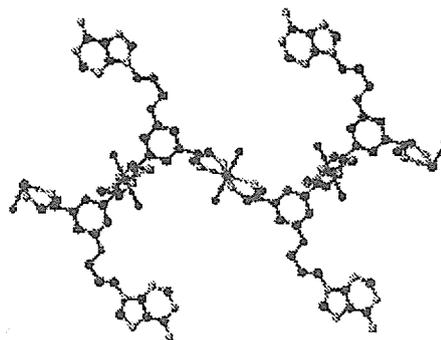


Figure 1. The crystal structure of Zn<sup>II</sup> complex **2**.

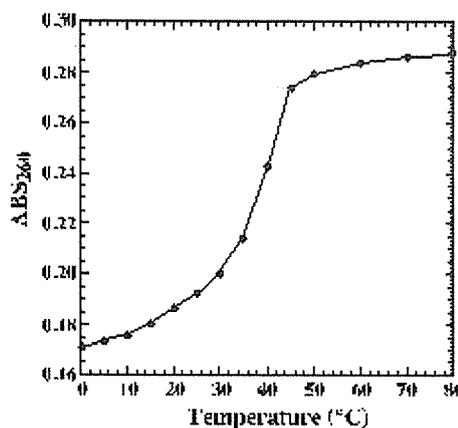


Figure 2. Temperature-dependency of a 1 : 1 mixture of Zn<sup>II</sup> complex **2**.

## 論文の審査結果の要旨

本研究では、金属錯形成によって主鎖を構築した人工 DNA が、天然の一本鎖 DNA をテンプレートとして自発的に集合化する分子システムの構築を目指した。DNA は生体情報分子であり、生体内でタンパク質の設計図として機能し、重要な役割を担っている。本研究では、人工的にデザイン・合成した化合物（人工 DNA モノマー）が、一本鎖鋳型 DNA と相補的な水素結合形成、スタッキング、主鎖を形成する金属錯形成という三つのドライビングフォースにより、二本鎖を形成するような分子システムの構築を行った。一本鎖 DNA の塩基配列情報を設計図として、その配列にしたがって分子や官能基が配列、組織化する分子システムの構築を目標とした初めての例である。

具体的には、分子間で金属錯形成を介して一次元ポリマー状の錯体 ( $Zn^{II}$  complex) を形成する人工 DNA をデザイン・合成した。亜鉛イオンとの錯体の分子構造は、X線結晶構造解析により、目的とするようなポリマー状の一次元錯体であることが確認された。

一本鎖鋳型 DNA ( $(dT)_{70}$ ) との相互作用は、UV 吸収スペクトル、CD スペクトル等により検討された。温度変化による UV 吸収スペクトル変化、即ち融解温度実験では、天然の DNA に非常に類似した融解温度曲線を得ることができ、Job plot、CD スペクトルから合わせて考えると、 $(dT)_{70} : Zn^{II}$  complex は 1 : 1, 2 : 1 複合体の形成が明らかにされた。

このように、本研究は天然の一本鎖鋳型 DNA の塩基配列を設計図とするための基礎的な研究である、金属錯形成により主鎖を形成し、水素結合、スタッキングと静電的な相互作用によって二本鎖を形成するような分子システムの構築を行った、新しい試みである。

以上の研究成果は、3 報の論文（英文：一報は投稿準備中）としてまとめられている。本審査委員会では全員一致で、幡野明彦氏の提出論文は学位を与えるに相応しいものと判定した。

面接による試験は、出願者に学位論文の内容を約 1 時間で発表してもらい、その後、人工 DNA のデザイン・合成、そして金属錯形成によって生成した人工 DNA の構造、天然の一本鎖 DNA との相互作用についての詳細を中心に 1 時間半にわたって質疑応答を行い、活発な論議が展開された。多面的な質問に対する確に答えると共に、今後の研究の方向・解決すべき課題に対しても正確な考えを持っていると判断された。

本学位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論文（英文）を中心に英語力を審査し、語学力に何等問題はないと判定された。

公開発表会における発表も良く整理されており、合格と認定した。