T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	塩基部を窒素含有芳香環で修飾した新規三重鎖形成核酸の開発
Title(English)	
著者(和文)	伊藤優
Author(English)	Yu Ito
出典(和文)	学位:博士（理学）, 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10080号, 授与年月日:2016年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:清尾 康志,湯浅 英哉,一瀬 宏,林 宣宏,大窪 章寛,関根 光雄
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10080号, Conferred date:2016/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	分子生命科学　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	伊藤　優	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	清尾　康志
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

本博士論文は、「塩基部を窒素含有芳香環で修飾した新規三重鎖形成核酸の開発」という題目で、序論、一章、二章で構成されている。

序論では、三重鎖構造を基盤とするアンチジーン法および三重鎖形成核酸 (TFO)を用いた遺伝子改変について述べている。つぎに、これらの技術を用いる際、天然型核酸塩基のみを含む TFO によって形成された三重鎖構造の熱安定が低いこと、認識できる配列がホモプリン-ホモピリミジン配列に限定されるという配列制限が問題になっていることを述べている。

第一章「三重鎖構造の安定化を指向した 2,4-ジアミノピリミジン残基を有する新規デオキシウリジン誘導体の合成と性質」では、三重鎖構造の安定性の問題を克服するために Ade-Thy 塩基対を認識し結合する人工核酸塩基の開発を報告している。そのような性質をゆうする人工塩基として *N*-(2-アミノピリミジン-4-イル)-3-(ウラシル-5-イル)プロピオルアミド (Ura^{COPyr})を設計した。まず、Ura^{COPyr} の 1 位の窒素原子がメチル化されたモデル化合物の合成をおこなった。種々検討の結果、このモデル化合物は縮合剤として COMU を用いることで、4-ジアミノピリミジンと 3-(メチルウラシル-5-イル)プロパギル酸とのアシル化反応によって合成可能なことを明らかにした。また、4 位アミノ基上の窒素原子を ^{15}N 標識した 2,4-ジアミノピリミジンを用いることで、2 位選択的にアシル化反応が進行していることを明らかにした。つづいて、Ura^{COPyr} の 1 位のメチル基をデオキリボースへと変換した $dUra^{COPyr}$ の合成を試みた。しかし、形成したアシル部位は不安定であり、シリカゲルカラムクロマトグラフィーの精製過程で容易に分解してしまうことを明らかにした。そこで、Ura^{COPyr} 不安定なカルボニル基をメチレン基へと変換することで、安定性を向上させた 5-[3-(2-アミノピリミジン-4-イル)アミノプロピン-1-イル]ウラシル (Ura^{CH2Pyr})を塩基部にもつデオキシヌクレオシド (dU^{CH2Pyr})を新たに設計し、その合成を試みた。その結果、dU^{CH2Pyr} ホスホロアミダイト誘導体ならびに、それを含む TFO の合成に成功した。つづいて、得られた TFO の三重鎖形成能を三重鎖融解温度 (T_m 値)によって評価した。その結果、今回合成した Ura^{CH2Pyr} は、母格である Thy と比べ、Ade-Thy 塩基対との三重鎖構造を著しく安定化することを明らかにした。また、塩基識別能に関しては Thy と同等であった。これらの結果より、Ura^{CH2Pyr} は塩基識別能を損なうことなく、その三重鎖構造を安定化する性質を有することを明らかにした。

第二章では、「Thy-Ade 塩基対を認識する新規デオキシグアノシン誘導体の合成と性質」と題し、パラレル型三重鎖の配列制限の問題を克服するための研究を報告している。Thy-Ade 塩基対を認識し結合する人工核酸塩基の開発を Gua:Thy-Ade triplet の構造をもとに検討した。Gua:Thy-Ade triplet が不安定な理由として、Thy には水素結合サイトが 4 位のカルボニル基一ヵ所しかないことが挙げられる。そこで Thy と相補的な位置にある Ade に対する水素結合サイトを付与した人工核酸塩基の設計をおこなった。1 つ目は、pyrido[2′,3′:4,5]imidazo[1,2-*a*]purin-10-one (PIP)を塩基部にもつデオキシヌクレオシド (dPIP)である。この化合物は、PIP の 5 位イミノ基と主鎖 Thy の 4 位カルボニル基の水素結合と、PIP の 4 位窒素と相補鎖 Ade の 2-*N*-アミノ基との合計 2 本の水素結合により三重鎖構造を安定化すると考えた。2 つ目は、2-*N*-(pyrimidin-2-yl)-guanine (Gua^{Pym})を塩基部にもつデオキシヌクレオシド (G^{Pym})である。この化合物も PIP と同様に、合計 2 本の水素結合により三重鎖構造を安定化すると考えられる。まず、dPIP の合成検討を行った。dPIP はデオキシグアノシン（G）の 2 位アミノ基と 1 位のイミノ基をピリジン 2 位、3 位と各々連結することで合成する。前者に関しては Dommisse らの報告に従い適切な条件を見いだした。しかし、後者に関しては、種々反応を検討したが、目的物を得る条件を見いだせなかった。そこで、PIP の合成を断念し、PIP の合成で見いだした 2 位アミノ基とピリジン 2 位のアリール化反応を用いて、G^{Pym} ホスホロアミダイト誘導体ならびに、それを含む TFO の合成に成功した。つづいて、TFO の三重鎖形成能を T_m 値によって評価した。その結果、Gua^{Pym} は、母核とする Gua と同等の塩基識別能ならびに Thy-Ade 塩基対に対する三重鎖構造の安定化効果を示した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	分子生命科学　　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of　（　理学　）
学生氏名： Student's Name	伊藤　優	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	清尾　康志
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

Triplex forming oligonucletoides (TFOs) can bind the major groove of the corresponding double stranded DNA. TFOs are expected as powerful tools for antigene therapy or site specific gene modification. However, these kinds of applications are limited due to the low binding affinity and high sequence-dependencies. In this doctoral dissertation, I try to solve these drawbacks by developing new modified nucleosides.

In the 1st chapter, to improve the low binding affinity of TFO to DNA duplex, I designed *N*-(2-aminopyrimid-4-yl)-3-(uracil-5-yl)propiolamide (Ura^{COPyr}) to recognize Ade-Thy base pair in double stranded DNA. I first synthesized N^1-methyl Ura^{COPyr} to find conditions suitable for the synthesis of Ura^{COPyr}. By using appropriate coupling reagents (COMU), I succeeded in the selective acylation at the 2-amino group of 2,4-diaminopyrimidine by 5-(2-carboxyethynyl)-1-methyluracil. Subsequently, I attempted to synthesize dU^{COPyr} that converted methyl group of Ura^{COPyr} to *D*-deoxyribose, but dU^{COPyr} is easily decomposed on silica gel. Then I redesign more stable compound than Ura^{COPyr}. So I converted unstable carbonyl moiety of Ura^{COPyr} to stable methylene group, 5-[3-(2-aminopyrimidin-4-yl)aminopropyn-1-yl]uracil (Ura^{CH2Pyr}). As a result, I successfully synthesized this phosphoramidite derivative, as well as of TFOs containing Ura^{CH2Pyr}. The UV melting analysis revealed that a TFO incorporating Ura^{CH2Pyr} showed high affinity and selectivity.

In the 2nd chapter, to solve high sequence-dependencies problem, I designed pyrido[2′,3′:4,5]imidazo [1,2-*a*]purin-10-one (PIP) and 2-*N*-(pyrimidin-2-yl)-guanine (Gua^{Pym}) to recognize Thy-Ade base pair. Firstly, I attempted to synthesize nucleoside having PIP. This compound can synthesize by double aryl reaction: one is the reaction of 2-amino group of Gua with 2-position of pyridine, the other is N^1-imino group of Gua with 3-position of pyridine. I found the former condition, but didn't find the latter condition. Subsequently, I attempted to synthesize Gua^{Pym} by using the former arylation condition. As a result, I successfully synthesized this phosphoramidite derivative, as well as of TFOs containing Gua^{Pym}. The UV melting analysis revealed that a TFO incorporating Gua^{Pym} showed the same affinity and selectivity compared with Gua.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).