T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ピリダジン骨格を核酸塩基部に有する新規核酸誘導体の合成と性質
Title(English)	
著者(和文)	友利貴人
Author(English)	Takahito Tomori
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10082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,相澤 康則,林 宣宏,大窪 章寛,関根 光雄
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10082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 (Tokyo Institute 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	友利貴人	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	清尾康志　准教授
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

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

本研究では、核酸塩基の一つであるピリミジン塩基の構造をピリダジン環に変換した新規人工核酸の開発を行い、塩基対形成能、構造特性、核酸合成酵素との相互作用などの性質を明らかにした。これまでに、ピリダジン環以外のヘテロ環構造を核酸塩基部に有する人工核酸の報告は数多くされているが、ピリダジン環を核酸塩基部に有する研究は 1987 年と 1990 年に報告された 2 件の合成研究のみであり、塩基対形成能、構造特性、核酸合成酵素との相互作用に関する研究は報告されていない。したがって、ピリダジン環を核酸塩基部に有するヌクレオシドには、これまでに明らかにされていないヌクレオシドアナログとしての新たな性質を有している可能性が期待される。非常に興味深い性質が期待されるピリダジン環を核酸塩基部に有する新規人工核酸の合成法の開発を行い、その性質を明らかにするために研究を行った。

第一章ではペプチド核酸（PNA）の骨格にピリダジン環を導入し、ピリダジン環を塩基部に有する PNA ユニット、ならびにそれらを一カ所導入した PNA の合成と相補的配列をもつ DNA との二重鎖形成能を熱融解温度測定、円偏光二色性測定を行った。ピリダジン環の構造としては、チミンやウラシル塩基の類縁体であるフタラジン-1-オン（Ph^O）、ピリダジン-3-オン（Pz^O）および、シトシン塩基の類縁体である 1-アミノフタラジン（aPh）、3-アミノピリダジン（aPz）を合成し、PNA へと導入した。合成した Pz^O または aPz を一カ所含む PNA と相補的な配列をもつ DNA の混合物の円偏光二色性を測定したところ、予想通り二重鎖を形成していることが確認された。また、これらの PNA/DNA 二重鎖の安定性を熱融解温度測定で調べたところ、Pz^O および aPz を含む PNA は、同じ位置にチミンとシトシンを含む PNA と比べて相補鎖 DNA との結合能が低下するものの、Pz^O はチミンのアナログとして相補鎖 DNA 中のアデニンを、aPz はシトシンのアナログとして相補鎖 DNA 中のグアニンと最も安定な塩基対を形成していることを示唆した。一方、Ph^O、aPh を一カ所含む PNA は相補的な DNA との二重鎖を不安定化させることが示唆された。分子モデリングの結果、フタラジン環に縮環したベンゼン環がバックボーンと立体障害を起こすため二重鎖を不安定化させることが示唆された。

第二章ではピリダジン環を核酸塩基部に有するリボヌクレオシド（rPz^O）の NMR を用いた糖部コンホメーション解析、2′-デオキシヌクレオシド（dPz^O）の合成方法の開発、DNA 合成酵素との相互作用を明らかにするための 2′-デオキシヌクレオシド三リン酸（dPz^OTP）合成と DNA 合成酵素との相互作用における性質評価を行った。dPz^OTP の合成中間体である rPz^O の合成は既に報告されているが、実際に合成を行うと改善すべき種々問題点があることが分かったため、それらを克服し、充分な量の rPz^O を得ることに成功した。得られた rPz^O の糖部コンホメーションを 1H-NMR 測定で解析したところ、リボヌクレオシドであるにもかかわらず、ヌクレオシドの構造としてはデオキシリボヌクレオシドに近い S 型のコンホメーションを有していることを明らかにした。さらに dPz^O の合成、目的物である dPz^OTP の合成を達成することが出来た。そして、dPz^OTP が DNA 合成酵素（Klenow Fragment, KF）の基質になりうるか評価するために一塩基伸長反応を行ったところ、テンプレート上の相補塩基がアデニンのときのみプライマー鎖の伸長が確認された。さらに、dPz^OTP が取り込まれたあとの鎖伸長反応が進行するか検討を行ったところ、さらなる鎖の伸長が確認された。この結果から、合成した dPz^OTP は DNA 合成酵素の基質となりチミジンのアナログとして働く可能性を示唆した。

【結論】ピリダジン環を核酸塩基部に有するオリゴマーの塩基識別能については、チミンやウラシルのアナログである Pz^O はアデニンと強く結合し、シトシンアナログである aPz はグアニンと最も強く結合することが明らかとなり、各々分子認識能に関してはチミンのアナログおよびシトシンのアナログとして働くことを明らかにした。また、塩基対形成能などの性質は、これらの塩基をオリゴヌクレオチドやヌクレオシド三リン酸に導入しても保持されると期待されることからヌクレオシド三リン酸（dPz^OTP）の合成に着手し、重要中間体 rPz^O の合成における収率改善を達成し、酵素認識解明にむけた新たな三リン酸 (dPz^OTP)の合成を達成した。dPz^OTP の DNA 合成酵素との相互作用を調べたところ、dPz^OTP は DNA 合成酵素の基質となることが確認され、また取り込まれた後の鎖の伸長を阻害しないことからチミジンの新たなアナログとしての可能性を見出した。

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　（　理学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	友利貴人	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	清尾康志　准教授
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

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

Recentry, addition of new functions to nucleic acids by modifying bases is studied actively. A lot of pyrimidine base analogs, which are synthesized from various heterocyclic compounds such as pyrazine, triazine, pyridine have been reported. However, it have not been reported that properties of nucleosides which have pyridazine ring base. These studies suggest that pyrimidine base analogs are useful for the development of new artificial oligonucleotides and bioactive nucleoside or nucleotide analogs.

First, Pyridazine-type nucleobases pyridazine-3-one (Pz^0) and phthalazin-1-one (Ph^0) as thymine analogs, and 3-aminopyridazine (aPz) and 1-aminophthalazine (aPh) as cytosine analogs, were synthesized and incorporated into peptide nucleic acids (PNAs) to study their base-pairing abilities. The PNA having one of these bases formed a duplex with complementary DNAs with lower affinity than that of the canonical PNA having thymine or cytosine. However, in the cases of Pz^0 or aPz containing of PNA, these PNAs formed more stable duplexes with complementary DNA, respectively, probably due to the formation of Watson-Crick-like base pairs. Thus, in terms of base recognition ability, our data suggested that Pz^0 and aPz may replace thymine and thymine, respectively.

Next, we report the synthesis and properties of a C-nucleoside triphosphate having pyridazin-3-one, which is analog of uracil. We successfully synthesized Pz^0 having C-nucleoside triphosphate. The Pz^0 triphosphate was incorporated into DNA as complemantary base-pairs with the Klenow Fragment of DNA polymerase I (KF) from *Escherichia coli*. As a result, the C-nucleoside triphosphate having Pz^0 may be useful for the development of new anticancer or antiviral agents.

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).