

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	7位に芳香環を有する蛍光7-デアザグアノシン誘導体の探索と効率的合成法の開発
Title(English)	
著者(和文)	徳川宗史
Author(English)	munefumi tokugawa
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9723号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種類:課程博士, 審査員:清尾 康志,関根 光雄,湯浅 英哉,林 宣宏,大窪 章寛,平尾 一郎
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9723号, Conferred date:2015/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文要約

専攻： 分子生命科学 専攻
Department of
学生氏名： 徳川 宗史
Student's Name

申請学位 (専攻分野)： 博士 (理学)
Academic Degree Requested Doctor of

指導教員 (主)： 清尾 康志
Academic Advisor(main)

指導教員 (副)： 関根 光雄
Academic Advisor(sub)

論文題目
Thesis Title

7位に芳香環を有する 蛍光 7-デアザグアノシン誘導体の 探索と効率的合成法の開発

蛍光色素を用いた生体分子の可視化は、生命現象を理解する上で極めて重要である。しかし、Cy3、Cy5あるいはフルオロセインといった蛍光色素団により核酸を標識した場合、その脂溶性により、核酸の局在や他の生体分子への相互作用に対して、影響を与えることが懸念され、このことから核酸本来の構造を維持するような蛍光色素の開発が重要である。

そこで、核酸塩基上に修飾を施し蛍光色素化した、蛍光ヌクレオシドに着目した。本来、天然の核酸塩基は蛍光を発しないが、核酸塩基上にアリール基を導入することで、蛍光ヌクレオシドの開発が可能である。蛍光ヌクレオシドの塩基部は、比較的小さい複素芳香環化合物であり、強い蛍光を発することは難しいが、天然の核酸塩基と同様に相補的な核酸塩基とワトソン・クリック塩基対を形成するような設計が可能である。このような特長を活かし、数多くの蛍光ヌクレオシドが開発され、それらを用いて核酸と生体分子との相互作用の解析が進められている。

蛍光ヌクレオシドを用いて二重鎖核酸の構造、あるいは二重鎖核酸と生体分子の相互作用を解析するためには、蛍光ヌクレオシドの導入により二重鎖核酸の構造を大きく歪めないことが重要である。しかし、このような試みに対し、有用な蛍光グアノシンの報告例は限られていた。その原因として、7-デアザグアノシン環の7位にアリール基を導入する場合、7-デアザグアノシンを出発原料に、複数の保護基の導入や、7位に対するヨード化、グリコシル化反応による糖部の導入など複雑な合成経路の設計が求められる点などが考えられる。

そこで本博士論文研究では、このような問題点を克服するべく、7位にアリール基を導入した7-デアザグアノシン誘導体の効率的な合成法を開発するとともに、7位アリール修飾型蛍光グアノシン誘導体を探索した。

第1章「 ^{BF}G ならびに ^{BF}H の合成と蛍光特性の評価」では、7位アリール修飾型蛍光7-デアザグアノシン誘導体の開発に先立ち、7-デアザグアニンの7位ならびに7-デアザヒポキサンチンの7位に対してそれぞれベンゾフラニル基を導入した、7-(ベンゾフラン-2-イル)-7-デアザグアニン (^{BF}G)ならびに7-(ベンゾフラン-2-イル)-7-デアザヒポキサンチン (^{BF}H)を設計、合成し、その蛍光特性を評価した (Figure 1a, b)。合成を検討する中で、プリン環の9位に置換基をもたないこれら ^{BF}G ならびに ^{BF}H の反応性は、9位に置換基を有する7-デアザグアニン誘導体の反応性とは異なることを見出した。また蛍光特性については、 ^{BF}G は高極性溶媒中で弱い蛍光を発し、溶媒の極性低下にともなうてその蛍光は強まった。一方、 ^{BF}H は高極性溶媒中で弱い蛍光を発したが、低極性溶媒中ではさらにその蛍光は消光されるという、 ^{BF}G とは逆の蛍光特性を示すことが分かった。また、合成上の副生成物として得られた2-アミノ-6-(ベンゾフラン-2-イル)-7-デアザプリン (^{BF}AP , Figure 1c)は溶媒の極性の変化によらず、強い蛍光を発することを見出した。

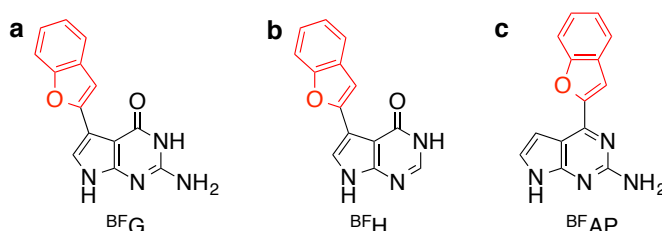


Figure 1. ベンゾフラニル基を有する蛍光7-デアザプリン誘導体の構造 a) ^{BF}G b) ^{BF}H c) ^{BF}AP

第2章「 ^{BF}dG を有する人工核酸の合成と蛍光特性の評価」では、第1章で見出された ^{BF}G を基に、7-デアザ-2'-デオキシグアノシンの7位にベンゾフラニル基が導入された7-デアザ-2'-デオキシ-(ベンゾフラン-2-イル)グアノシン (^{BF}dG)と ^{BF}dG を有するオリゴデオキシヌクレオチドを合成した (Figure 2)。まず、 ^{BF}dG を合成するにあたり、有用な鍵中間体である2-N-アセチル-7-デアザ-7-ヨード-6-O-(*N,N*-ジフェニルカルバモイル)グアニン (^{DPCI}G)を合成した。次に、 ^{DPCI}G を用いることで、グリコシル化、鈴木宮浦カップリングを経て7位アリール修飾型蛍光7-デアザグアノシン誘導体である ^{BF}dG を合成し、また ^{BF}dG をオリゴデオキシヌクレオチド中に導入することに成功した。まず、 ^{BF}dG と9位に糖部をもたない ^{BF}G との間で、溶媒の極性の変化に対する蛍光特性の変化を比較したが、大きな相違はないことが分かった。また、 ^{BF}dG の蛍光は溶媒の粘度の変化にも応答し、高粘度な溶媒中においてその蛍光は強まった。次に、 ^{BF}dG を有するオリゴデオキシヌクレオチドは、相補的な配列をもつ一本鎖DNAと安定な二重鎖を形成した。また、 ^{BF}dG の蛍光は、ヌクレオシド、一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド、二重鎖DNAと弱まった。

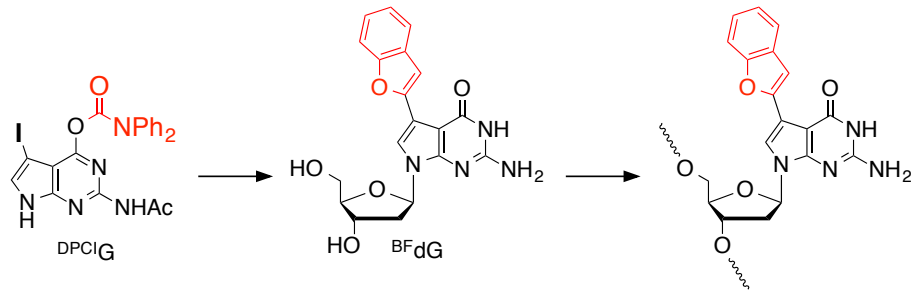


Figure 2. DPClG を用いた BFdG ならびに BFdG を有するオリゴデオキシヌクレオチドの開発

第3章「 $\text{Ph}^{\text{T}}\text{dG}$ を有する人工核酸の合成」では、第2章で見出した DPClG を用いた、さらなる7位アリール修飾型蛍光7-デアザグアノシン誘導体を目指し、ヒュスゲン環化付加反応を用いて7-デアザ-7-(1*H*-1,2,3-トリアゾール-4-イル)グアニン (T^{G}) 誘導体を合成し、特に7-デアザ-7-(1-フェニル-1*H*-1,2,3-トリアゾール-4-イル)グアニン ($\text{Ph}^{\text{T}}\text{G}$) 誘導体についてはそれをデオキシリボースと結合させた7-デアザ-2'-デオキシ-7-(1-フェニル-1*H*-1,2,3-トリアゾール-4-イル)グアノシン ($\text{Ph}^{\text{T}}\text{dG}$) とそれを有するオリゴデオキシヌクレオチドも合成した。まず、 DPClG を出発原料に3種類の T^{G} 誘導体を合成し、蛍光特性を評価した (Figure 3a)。DMSO 中で蛍光特性を評価した結果、3種類の T^{G} 誘導体の中で、フェニル基を導入した $\text{Ph}^{\text{T}}\text{G}$ が最も高い蛍光量子収率を示した。さらに、 $\text{Ph}^{\text{T}}\text{G}$ は 500 nm 付近に蛍光極大波長を示した。そこで、 DPClG を出発原料に、グリコシル化、菌頭カップリング、ヒュスゲン環化付加反応を経て、 $\text{Ph}^{\text{T}}\text{dG}$ を有するオリゴデオキシヌクレオチドの効率的な合成に成功した (Figure 3b)。

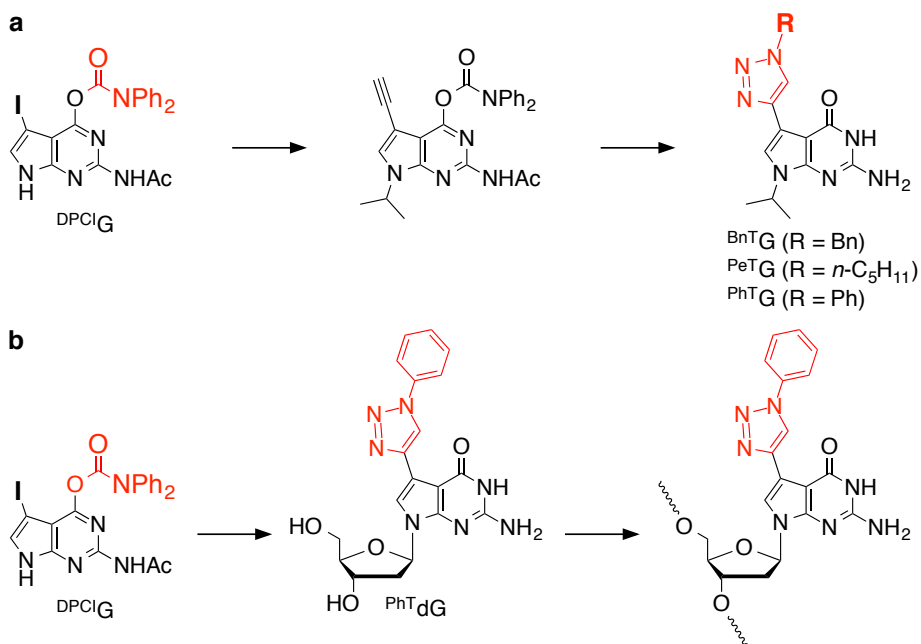


Figure 3. a) DPClG を用いた T^{G} 誘導体の合成 b) DPClG を用いた $\text{Ph}^{\text{T}}\text{dG}$ ならびに $\text{Ph}^{\text{T}}\text{dG}$ を有するオリゴデオキシヌクレオチドの合成

第4章「光延反応を用いた *N*-グリコシル化反応によるヌクレオシド合成法の開発」では、光延反応を用いた *N*-グリコシル化反応による 2'-デオキシヌクレオシドの合成法を開発した。まず、^{DPCl}G を用いて検討し、DMF 中、ADDP-トリブチルホスフィンを用いた際に、最も優れた反応性で目的の β-グリコシル体を与えることが示された。その結果を受け、次に **bz³T** を用いてより詳細に検討し、溶媒とホスフィンが反応性と立体選択性に大きく影響を与えることが明らかになった。光延反応を用いた *N*-グリコシル化反応による 2'-デオキシヌクレオシドの合成法を詳細に検討した (Figure 4)。まず、第2章で合成した ^{DPCl}G を用いて検討し、DMF 中、1,1'-(アゾジカルボニル)ジピペリジン (ADDP)-トリブチルホスフィンを用いた際に、最も優れた反応性で目的の β-グリコシル体を与えることが示された。その結果を受け、次に *N*³-ベンゾイルチミン (**bz³T**) を用いてより詳細に検討し、溶媒とホスフィンが反応性と立体選択性に影響を与えることが示された。

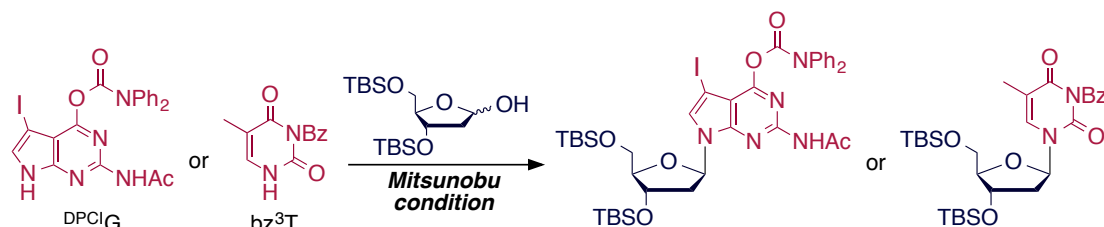


Figure 4. 光延反応を用いた ^{DPCl}G ならびに **bz³T** の *N*-グリコシル化反応