

論文審査の結果の要旨

氏名 中間 貴寛

DNA は、塩基対間の水素結合により二重らせんを形成する。この配列特異的な自己集合を生かし、DNA は超分子構造体の構築に盛んに応用されてきた。DNA 超分子の高機能化に向けて、外部刺激応答性を付与する手法の開発が必要とされてきた。金属イオンと配位子型ヌクレオチドからなる金属錯体型人工塩基対は、DNA 二重鎖内での金属錯体形成により DNA の会合・構造を制御することができる。そのため、金属錯体型塩基対を用いた金属イオン応答性 DNA 超分子の創製が期待される。しかしながら、配位子型 DNA 鎖の合成上の課題から、人工ヌクレオチドからなる金属錯体型塩基対を用いた DNA の機能化、および金属応答性 DNA 超分子は未開発であった。従来の化学合成法は、配位子の保護を必要とし、煩雑な精製の過程を伴うため、DNA 超分子の開発に必要な配列の検討や長鎖 DNA への人工ヌクレオチドの導入が困難であった。

そこで本研究では、金属応答性 DNA 超分子の創製を指向し、金属配位子型人工 DNA 鎖の酵素合成法を開発した。酵素反応を用いることで、配位子の保護が不要で簡便な合成手法を開発できると期待した。天然 DNA 合成酵素の基質許容性や基質誤認識に基づき、天然 DNA 鎖を鋳型として配位子型人工ヌクレオチドを導入できると考えた。具体的には、 Cu^{II} を介した金属錯体型塩基対を形成するヒドロキシピリドン型人工ヌクレオチド(**H**)を位置選択的に DNA 鎖に導入できる酵素合成法を開発した。さらに、酵素合成法を用いて触媒活性をもつ DNA、デオキシリボザイム (DNAzyme) に **H** を導入し、 Cu^{II} 応答性 DNAzyme の開発を行った。金属錯体型塩基対 $\text{H-Cu}^{\text{II}}\text{-H}$ により DNA 鎖の会合または高次構造を制御することで、 Cu^{II} イオンに応答して活性を示す DNAzyme を開発できると考えた。金属錯体型塩基対の可逆的な錯体形成や金属選択性を活用して DNAzyme の活性を制御することで、新規機能をもつ DNA 超分子を創製できると期待した。

本論文は全 6 章からなり、第 1 章では序論として DNA 超分子化学の全体像、金属錯体型塩基対を用いた金属イオン応答性 DNA 超分子の開発の意義、および酵素合成の有用性が述べられ、本研究の目的と意義を議論している。

第 2 章では、金属配位子型人工 DNA の酵素合成法が述べられている。天然

DNA鎖を鋳型として配位子型人工Hヌクレオチドを導入する酵素合成法が検討され、Hヌクレオシド三リン酸またはHオリゴマーを基質とした4種類の合成法が確立された。2種類のDNAポリマーゼとDNAリガーゼを活用し、一つないし複数のHヌクレオチドを位置選択的にDNA鎖に導入することに成功した。これらの酵素合成法は、金属配位子の保護を必要とせず、市販の酵素を使える「簡便な人工DNA鎖の合成法である。さらに、酵素の誤認識と許容性を利用し、H以外の様々な配位子型ヌクレオチドを導入できる。そのため、金属錯体型塩基対を用いたDNA超分子の開発を大きく進展させると期待される。

第3章では、第2章の酵素合成法を用いて分割型のCu^{II}応答性DNAzymeを開発した。既報のDNAzymeを2本の鎖に分割し、それぞれにHを導入した。H-Cu^{II}-H塩基対の形成により分割した鎖が会合し、活性な構造が復元されることで、Cu^{II}イオンに応じて触媒活性を示すDNAzymeを構築した。このCu^{II}応答性DNAzymeは、高い金属選択性を示すとともに、Cu^{II}イオンの添加・除去により可逆的に活性が制御され、DNA論理回路や分子機械への応用が期待される。

第4章では、金属錯体型塩基対を用いてDNAzymeの高次構造を制御することにより、一本鎖型のCu^{II}応答性DNAzymeの開発を達成した。H-Cu^{II}-H塩基対の形成により活性な構造を誘起することで一本鎖DNAzymeの触媒活性をアロステリックに制御した。二次構造に基づいた設計により、金属イオン応答性DNAzymeの合理的な開発を可能とした。

第5章では、複数の金属イオンを外部刺激としたDNAzymeの活性制御を報告している。2種類の金属錯体型塩基対の選択的な形成を生かし、二つのDNAzymeの直交制御を達成した。また、2種類の金属イオンをインプットとするDNA論理回路も開発した。このように錯体型塩基対の金属選択性を活用したDNA超分子を開発し、金属イオンを外部刺激とする有用性を実証した。

第6章では、本論文の総括と今後の展望が述べられている。

以上のように、本博士論文では、金属配位子型人工DNA鎖の酵素合成法を確立し、Cu^{II}応答性DNAzymeの創製を達成した。本研究成果は、金属錯体型塩基対を用いた金属イオン応答性DNA超分子の新規合成法と設計指針を提示し、DNA超分子化学を中心に理学の発展に大いに貢献するものである。本論文の研究は複数の研究者との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験、解析および考察を行っており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。