

論文審査の結果の要旨

氏名 植原 渉

本論文は、*H*-ボラノホスホネート法による、リン原子上にボラノ基を有する核酸誘導体 (ボラン修飾型 DNA) の合成と、合成したオリゴマーの二重鎖形成能について述べたものであり、序論及び三章からなる本論より構成されている。

第一章、序論では、ボラン修飾型 DNA の一種であるボラノホスフェート DNA と、アンチセンス分子として最も広く研究が行われているホスホロチオエート DNA の物理化学的性質や生物学的性質を比較し、ボラノホスフェート DNA がアンチセンス分子として優れた性質を持つことを述べている。さらに、これまでに報告されているボラノホスフェート DNA オリゴマーの合成法の問題点について概観し、ボラノホスフェート DNA オリゴマーを効率的に合成する手法を確立することで、アンチセンス医薬の開発に貢献できることを明確にしている。本研究における *H*-ボラノホスホネートモノマーユニットを用いて鎖長伸長を行い、中間体として *H*-ボラノホスホネート DNA を得た後に酸化反応を施すことでボラノホスフェート DNA を得るという合成法が、従来法の問題点を解決可能であることを明確にしている。また、未だ報告例のないボラン修飾型 DNA オリゴマーの物理化学的性質や生物学的性質を明らかにすることの重要性を述べた上で、本手法が様々なボラン修飾型 DNA オリゴマーの合成に適用可能であることを述べている。このように、種々のボラン修飾型 DNA オリゴマーを効率的に合成する手法を確立することの重要性を説明し、本研究の目的、意義、位置づけを詳細に述べている。

第二章では、液相での *H*-ボラノホスホネートモノマーユニット及び二量体の合成検討の結果を述べている。まず、*H*-ボラノホスホネートモノマーユニットの合成において、氷浴下で縮合剤を系中に加え、その後反応温度を室温に上昇させることで、目的物を良好な収率で得ることに成功している。次に、合成したモノマーユニットと 5'位に遊離の水酸基を有するヌクレオシドを縮合し、*H*-ボラノホスホネート DNA 二量体を合成することで、縮合反応の条件検討を行った結果について述べている。その結果、縮合剤に MNTP、塩基に DMAN を用いると縮合反応が効率的に進行することを明らかにした。さらに、*H*-ボラノホスホネート DNA 二量体の変換反応として酸化反応と硫化反応の条件検討の結果を述べている。*H*-ボラノホスホネート DNA 二量体に対して、DIPEA、四塩化炭素、水を用いて酸化することでボラノホスフェート DNA 二量体、DIPEA と DTD を用いて硫化することでボラノホスホロチオエート DNA 二量体が高収率で得られることを明らかにした。

第三章では、第二章の液相法において検討した条件を固相法に応用し、固相担体上で種々の長鎖ボラン修飾型 DNA オリゴマーを合成した内容について述べている。まず、固相担体上においてボラノホスホフェート DNA、ボラノホスホロチオエート DNA、及びボラノホスホロアミデート DNA 二量体を合成することで、種々の反応のさらなる最適化を行っている。固相合成の反応工程は、1) 固相担体上のヌクレオシドとモノマーユニット

の縮合反応、2) 酸による 5'位の DMTr 基の除去、3) 変換反応、4) 固相担体からの切り出しと核酸塩基部位の保護基の除去であるが、中でも縮合反応の条件によって目的物の収率が大きく左右されると述べている。縮合反応時に添加する塩基として、DMAN を用いると、中間体である *H*-ボラノホスホネート DNA 二量体が一部分解し、同定不能の副生成物が生成したが DMAN よりも弱塩基の 2,6-ルチジンを用いると *H*-ボラノホスホネート DNA 二量体の分解を抑制することができ、目的物が極めて高い収率で得られることを明らかにした。さらに、この縮合条件は、四種類全ての核酸塩基に適用可能であると述べている。次に、二量体での合成条件を基に、縮合反応と脱 DMTr 化を繰り返し行うことで鎖長伸長し、最後に種々の変換反応を施すことで、ボラノホスフェート DNA、ボラノホスホロチオエート DNA、及びボラノホスホロアミデート DNA 十二量体の合成を行っている。さらに、LNA チミジン *H*-ボラノホスホネートモノマーユニットの合成を行い、それを用いて鎖長伸長を行うことで、LNA を導入したボラノホスフェート十二量体の合成に成功している。

第四章では、合成したオリゴマーと相補鎖を用いた二重鎖融解温度測定の結果を述べている。いずれのチミジル酸十二量体においても、相補鎖と安定な二重鎖を形成したことを示唆する UV 曲線は得られないが、四種類全ての核酸塩基を有する十二量体では、相補鎖と二重鎖を形成すると述べている。2'-デオキシボラノホスフェート DNA と相補鎖 RNA の T_m 値は 30 °C となり、天然型 DNA を用いた場合よりも約 10 °C 低い一方、LNA を導入したボラノホスフェートの T_m 値は 64 °C となり、天然型 DNA よりも大幅に高い T_m 値を与えたと述べている。この結果から、ボラノ基によって二重鎖は不安定化するが、LNA を導入することでその欠点を補うことができることを明らかにした。また、ボラノ基の置換基効果によって、相補鎖が DNA の場合よりも RNA の場合に T_m 値が高いことから、アンチセンス分子として有効に働くことが期待されると述べている。

以上のように、*H*-ボラノホスホネート DNA を鍵中間体として、種々のボラン修飾型 DNA オリゴマーを効率的に得ることができる手法を確立した。また、本手法は、四種類全ての核酸塩基に適用可能であり、かつオリゴマーの任意の位置に LNA を導入することができる利点を示した。さらに、オリゴマーの二重鎖融解温度測定から、LNA を導入したボラノホスフェートは二重鎖形成能が極めて高いことを示し、LNA 修飾がボラノ基による二重鎖の不安定化を補うことができる有効な手段であることを明らかにした。

これらの成果は、有機合成化学、核酸化学、医学、薬学などの諸分野の発展に大きく寄与することが期待される。

よって本論文は、博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。