

学位論文題名

BINDING INTERACTIONS OF ENANTIOMERIC
RUTHENIUM COMPLEXES WITH DNA

(光学活性ルテニウム錯体と DNA との相互作用の研究)

学位論文内容の要旨

DNAと構造特異的に結合する試薬を開発することは、DNA研究において化学が寄与できる重要な課題の一つである。最近このための試薬として金属錯体を用いることが試みられている。金属錯体の示す酸化還元反応、光増感作用あるいは金属錯体特有の対称性の高い構造などがDNAとの相互作用において有機分子には見られない機能を発揮することが期待される。本研究では、金属錯体に特徴的な性質のひとつである金属イオンの周りの配位構造に基づく分子不斉に着目し、この不斉が金属錯体とDNAとの相互作用に及ぼす影響について調べることを目的とした。DNAはよく知られているように水溶液中で右巻きのラセン構造をとっている。光学活性錯体との立体選択的な相互作用によってDNAの局所構造を識別して光切断反応を起こす錯体を開発することを目指した。

上の目的のために本研究では光学活性なルテニウム(II)錯体を取り上げた。ルテニウム(II)錯体はラセミ化を起こしにくく、長寿命の励起状態を有し種々の光酸化・還元反応を起こすことが知られている。今までの研究によって、 $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$

(phen = 1,10-フェナントリン)のようなかさ高い平板な配位子を有するトリスキレート型錯体がDNAと立体選択的に相互作用し、DNAに光切断反応を起こすことが示されている。しかしこの光学異性体がどのような結合構造をしているのか、あるいは光切断反応に特有の結合様式はあるのかなどの点が明らかにされていない。そこで本研究ではこの錯体を出発点として種々の特性を持った配位子との混合配位子錯体を合成し光学分割した。それらの錯体とDNAおよび特定の塩基配列を持った合成ヌクレオチドとの結合を各種の分光法によって明らかにするとともに、プラズミドを用いた光誘

起切断反応によってDNA切断試薬としての可能性を調べた。

用いた錯体は可視部領域に金属-配位子間電荷移動 (MLCT) 吸収スペクトルを有する。この吸収における吸収強度の変化から結合定数を求めた。光学異性体間で結合能を比較することにより相互作用における立体選択性の有無を調べた。円二色性 (CD) スペクトルによってDNAのヘリックス構造によって誘起されるCDスペクトルの変化を調べた。これによって錯体がどの程度DNA鎖の中に入り込んでいるかが推定された。紫外部および真空紫外部のCDスペクトルより結合の前後におけるDNAのコンフォメーションを調べた。電気二色性 (LD) スペクトルによって結合した錯体の配向を調べた。この方法では、試料溶液に電場パルスをかけ、DNAと錯体との付加物が電場下で配向することによって生ずる吸収スペクトルの異方性を検出する。異方性の有無によって錯体が規則的な配向をして結合しているか否かがわかる。また異方性の大きさから配向したDNA鎖に対するMLCT帯の遷移モーメントの方向を知ることができる。蛍光スペクトルの測定から結合した錯体の環境を調べた。さらに蛍光挙動と光切断反応の有無との関係を調べた。

研究は以下の段階を経て行った。

(1) $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ 錯体の配位子の一つを極めて大きな配位子 phi ($= 9, 10\text{-フェナントレンキノジイミン}$) に変えた錯体 $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{phi})]^{2+}$ および $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{phi})]^{2+}$ ($\text{bpy} = 2, 2'\text{-ビピリジン}$)、 $[\text{Ru}(\text{dmbpy})_2(\text{phi})]^{2+}$ ($\text{dmbpy} = 5, 5'\text{-ジメチル-2, 2'\text{-ビピリジン}$) を合成した。この錯体とDNAおよび特定の塩基配列をもつ合成ヌクレオチドとの結合の様子を調べた。この錯体は可視部に中心金属から phi 配位子へ向いた遷移モーメントを持つ特有の吸収帯を示す。この吸収帯に着目してLDスペクトルよりDNAに結合した錯体の配向を調べた。またこの吸収帯についてDNAによって誘起されるCDスペクトルを調べた。その結果、この錯体では Δ 、 Λ の両光学異性体において phi 配位子が塩基間にインターカレートした構造をとることが結論された。さらにインターカレートしていない phen および bpy 配位子は光学異性体間で異なる配向をとっていることが解った。塩基配列が結合の強さに及ぼす効果を調べた結果、一般にその影響は小さかったが、 Δ - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{phi})]^{2+}$ に対しては $A-T$ 対を持つヌクレオチドの方が $G-C$ 対を持つものよりは6倍近く大きい結合を示した。またZ型のヌクレオチドにこれらの錯体が結合するとB型への変化が引き起こされることが見いだされた。これらの錯体は蛍光を

発せず、光切断反応は行わなかった。

(2) phen配位子に比べてよりかさ高い配位子であるdip(=4,7-ジフェニル-1,10-フェナントリン)を有する錯体 $[\text{Ru}(\text{dip})_3]^{2+}$ を用いてDNAとの結合および光切断反応を調べた。CD, LDスペクトルからこの錯体は Δ , Λ の両光学異性体ともにDNAの外側に一定の配向で結合することが解った。おそらく配位子のかさ高さのために塩基間へのインターカレーションができず、リン酸基との静電的な力によって結合しているものと思われる。両光学異性体の蛍光スペクトルの比較から Δ 体ではDNA上で会合体を形成していることが推定された。光切断反応においては光学異性体間で差が見いだされなかった。この錯体が光切断反応を起こすことから、切断のためには必ずしもインターカレーションが必要では無いことが解った。

(3) 錯体の疎水性の効果を調べる目的で $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dpa})]^{2+}$ (dpa=4,4'-ピリジンジアミン)および $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ddp})]^{2+}$ (ddp=N-テトラメチルピリジニウム)を合成してDNAとの結合を調べた。これらの錯体はインターカレーションする程の十分平板な配位子を持たず、DNAの外側にランダムな配向で結合していることがわかった。弱い蛍光を発しDNAを光分解することが見いだされた。

(4) DNAとより広い領域で相互作用する錯体としてRu(II)の二核錯体、 $\{\text{Ru}_2(\text{bpy})_4(\text{bpm})\}^{4+}$ (bpm=2,2'-ビピリジン)を合成してDNAとの結合を調べた。予想に反してDNAとの結合は極めて弱いものであった。錯体の立体的な障害のために安定な結合が達成されないと推定した。

以上光学活性ルテニウム(II)錯体を合成してDNAとの相互作用を電気二色性の測定を含む各種分光法によって調べた。その結果インターカレーションした錯体、DNAの外部に結合した錯体のどちらにおいても結合において立体選択性の存在することが見いだされた。また光切断反応においては、必ずしもインターカレーションが必要でないことが解った。

学位論文審査の要旨

主査 教授 山岸 皓彦
副査 教授 新田 勝利
副査 教授 佐々木 陽一
副査 助教授 中田 允夫

学位論文題名

BINDING INTERACTIONS OF ENANTIOMERIC RUTHENIUM COMPLEXES WITH DNA

(光学活性ルテニウム錯体とDNAとの相互作用の研究)

本研究は、DNAと構造特異的に結合する試薬を開発するために、金属錯体とDNAとの相互作用を各種の分光法を用いて調べたものである。結合試薬として金属錯体を選んだ理由は、金属錯体の示す酸化還元反応、光増感作用あるいは金属錯体特有の対称性の高い構造などがDNAとの相互作用において有機分子には見られない機能を発揮することが期待されたからであると述べられている。

本研究では、金属錯体に特徴的な性質のひとつである金属イオンの周りの配位構造に基づく分子不斉に着目し、この分子不斉が金属錯体とDNAとの相互作用に及ぼす影響について調べている。DNAはよく知られているように水溶液中で右巻きのラセン構造をとっており、光学活性錯体との立体選択的な相互作用によってDNAの局所構造を識別して光切断反応を起こすことが期待される。しかし従来の研究でこの点について詳しく調べた例はほとんど無い。

上の目的のために本研究では、光学活性なルテニウム(II)錯体を取り上げている。ルテニウム(II)錯体はラセミ化反応を起こしにくく、長寿命の励起状態を有し種々の光酸化・還元反応を起こすことがその理由にあげられている。今までの研究によって、

$[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ (phen = 1,10-フェナントリン) のようなかさ高い平板な配位子を有するトリスキレート型錯体がDNAと立体選択的に相互作用し、DNAに光切断反応を起こすことが示されている。しかしこの光学異性体がどのような結合構造をしているのか、あるいは光切断反応に特有の結合様式はあるのかなどの点が明らかにされていない。そこで本研究ではこの錯体を出発点として種々の特性を持った配位子との混合配位子錯体を合成し、それら錯体とDNAおよび特定の塩基配列を持った合成ヌクレオチドとの結合を各種の分光法によって明らかにしている。さらに、ブラズミドを用いた光誘起切断反応

によってDNA切断試薬としての可能性も調べている。

用いた錯体は可視部領域に金属-配位子間電荷移動 (MLCT) 吸収スペクトルを有するので、この吸収における吸収強度の変化から結合定数が求められた。光学異性体間で結合能を比較することにより相互作用における立体選択性の有無が調べられた。得られた結果から結合における不斉の影響、ポリヌクレオチドの塩基配列の影響が明らかにされた。さらに円二色性 (CD) スペクトルによってDNAのヘリックス構造によって誘起されるCDスペクトルの変化も調べられた。これによって錯体がどの程度DNA鎖の中に入り込んでいるかが推定された。紫外部および真空紫外部のCDスペクトルより結合の前後におけるDNAのコンフォメーションが調べられた。錯体の結合によって、ZタイプからBタイプへの構造変化が引き起こされることが見いだされた。電気二色性 (LD) スペクトルの測定によって、結合した錯体のDNA鎖に対する配向が決定された。蛍光スペクトルの測定から結合した錯体の環境を調べられた。これらについても錯体の不斉の影響が明らかにされた。最後に、蛍光挙動と光切断反応の有無との関係が調べられた。

以上、広範な種類の光学活性ルテニウム(II)錯体を合成・光学分割して、DNAとの相互作用を電気二色性の測定を含む各種分光法によって調べた結果、錯体の不斉と結合構造との関係が明らかにされた。これに基づいて、DNAの塩基間にインターカレートする錯体とDNA鎖の外部に結合する錯体の構造的特徴が明らかにされた。また、どちらの部類の錯体についても結合において立体選択性の存在することが見いだされた。さらに光切断反応においては、必ずしもインターカレーションが必要でないことが解った。これらの結果はDNAに構造特異的に結合あるいは切断を起こす金属錯体を開発する上で貴重な知見となるものと評価できる。これらのことより審査員一同は本研究が博士(理学)の学位に値するものであると判定した。