

学位論文題名

Template Polymerization of
Nucleobase Monolayer Having Diacetylene Group

(ジアセチレン基を有する核酸塩基単分子膜の鋳型重合)

学位論文内容の要旨

DNA は二重らせん構造を有する生体高分子であり、遺伝情報の複製や翻訳などの機能を担っている。これらの機能は、四種類の核酸塩基が、アデニン-チミン、グアニン-シトシン間で選択性の高い水素結合を形成することによって維持されている。近年、気液あるいは固液界面などにおいても、このような塩基対形成が確認されている。そこで、DNA をモノマーシーケンスや重合度が厳密に制御された規則性高分子としてとらえることで、核酸塩基の分子認識特性が発現される二次元平面において、DNA を鋳型とした重合性の核酸塩基モノマーの配列が可能となる。さらにモノマー配列を維持したまま重合することによって、鋳型のモノマーシーケンスと分子量を反映した単分子膜の「鋳型重合」が可能となる。

本研究では、このような鋳型重合を行うモノマーとして、ジアセチレンを有する核酸塩基誘導体を合成した (Fig.1)。重合基であるジアセチレンは、トポケミカルな光重合性を有するため、DNA 鋳型上でのモノマーの配列を保ったまま重合することが期待される。また、光重合の結果、青相や赤相と呼ばれる着色した単分子膜が得られることから、可視光吸収スペクトルを測定することで、容易に重合反応を追跡することができる。そこで、オリゴヌクレオチド水溶液の気水界面を分子認識場として、ジアセチレン核酸塩基モノマーの鋳型重合を目的とした。本論文は、以下の内容で構成されている。

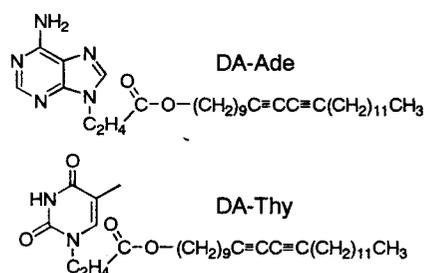


Fig.1 Chemical structures of nucleobase amphiphiles.

第一章では、これまでに行われてきた鋳型重合に関する研究を概説し、これらの問題点を指摘した。また、本研究における、気水界面での水素結合形成を利用した鋳型重合の設計指針について述べた。

第二章では、疎水部のアルキル鎖内に、重合性基としてジアセチレンを有するアデニンおよびチミン誘導体(DA-Ade、DA-Thy)を新規に合成し、核酸塩基モノマーとして用いた。

第三章では、前章で合成した DA-Ade、DA-Thy の単分子膜の塩基対形成を確認し、光重合性を検討した。表面圧-面積等温線の測定から、DA-Ade および DA-Thy 単分子膜は、気水界面において、水相に溶解した相補的な核酸塩基化合物を認識することを明らかにした。得られた単分子膜の光重合性を、水面での反射スペクトルを測定することで評価した。

結果、固体状態の DA·Thy 単分子膜では青相や赤相のポリジアセチレンが形成されるのに対し、DA·Ade 単分子膜では重合しなかった。赤相のポリジアセチレンの蛍光を利用して、重合体単分子膜のモルホロジーを観察したところ、DA·Thy と相補的なアデニン核酸を下水相に添加することでモルホロジーが変化した。これは、気水界面での分子認識によって、単分子膜の結晶構造が変化することを示している。

第四章では、DA·Ade と DA·Thy から成る混合単分子膜を作製し、その光重合性を検討した。この DA·Ade/DA·Thy は、気水界面において、Ade·Thy 塩基対を形成した。この塩基対単分子膜に紫外線を照射した結果、膜全体が重合し、 π -共役長が伸びた青相のポリジアセチレンを与えた。さらに、DA·Ade/DA·Thy 塩基対は、下水相に添加した poly(U)と、A·T·U 塩基三量体を形成すること、この塩基三量体単分子膜も、光重合することを見出した。以上のことから、モノマーとして DA·Ade/DA·Thy 塩基対単分子膜を用いることで、下水相のチミン或いはウラシルが鋳型となる可能性が示された。

第五章では、核酸塩基の配列や数が定まったオリゴヌクレオチドを鋳型として用いることで、DA·Ade/DA·Thy 塩基対単分子膜の重合を制御できることを確認した。ここでは、DA·Ade/DA·Thy 混合膜に重合基を持たない C₁₈-Cyt を添加し、三成分単分子膜の光重合性を検討した。まず、DA·Ade/DA·Thy 塩基対モノマーと C₁₈-Cyt が交互に鋳型上に配列することを確認するために、グアニンとチミンを有するオリゴヌクレオチド d(GT)₁₅ を下水相に添加した。d(GT)₁₅ 上では、dT₃₀ よりも青相ポリジアセチレンの生成が抑制された。さらに、d(GGT)₁₀ を鋳型とすることで、より強い抑制効果が見られた。DA·Ade/DA·Thy 塩基対と C₁₈-Cyt が、オリゴヌクレオチドを認識した結果、Ade·Thy 塩基対間に C₁₈-Cyt が挿入されたためと考えられる (Fig.2)。過剰の C₁₈-Cyt を DA·Ade/DA·Thy 塩基対単分子膜に混合し、これと水素結合複合体を形成する Poly(G)を下水相に添加したところ、dT₃₀ を鋳型とした場合には、ポリジアセチレンの形成がみられたのに対し、d(GT)₁₅ や d(GGT)₁₀ を鋳型にすると、全く重合が進行しなかった。Poly(G)と塩基対を形成した C₁₈-Cyt が非重合性の高分子マトリックスとして作用し、Ade·Thy 塩基対・C₁₈-Cyt/オリゴヌクレオチド複合体を孤立させたため、鋳型効果がより顕著にみられた。

以上のことから、気水界面において、オリゴヌクレオチドを鋳型としたジアセチレン核酸塩基単分子膜の精密重合が可能となった。得られたポリジアセチレン単分子膜は、鋳型として用いたオリゴ DNA の塩基配列の情報を有しており、ポリジアセチレンのクロミズムを利用した DNA センサーとしての応用が期待される。

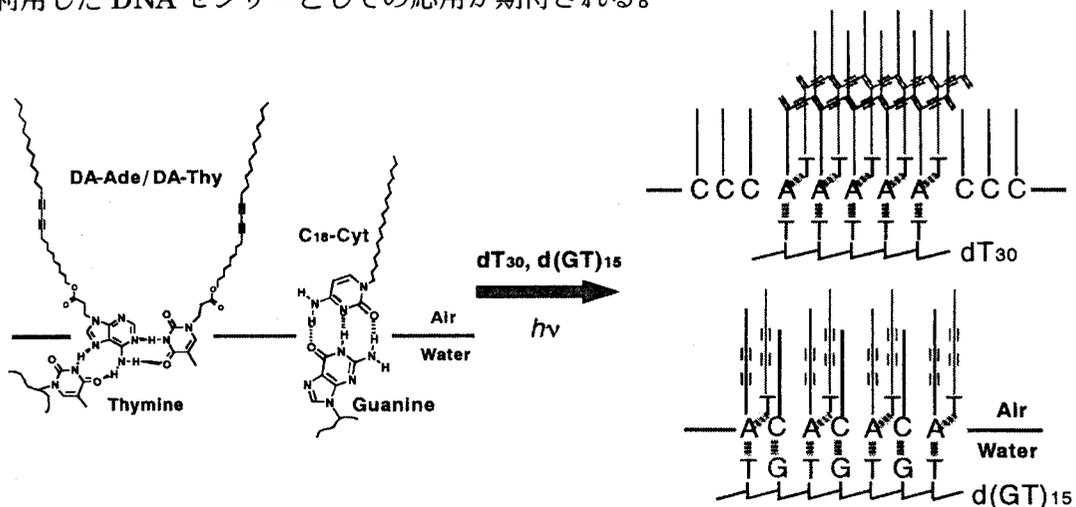


Fig.2 Schematic images of monolayer formation and photopolymerization of the mixed monolayers arranged by oligonucleotide template.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 下 村 政 嗣
副 査 教 授 喜 多 村 昇
副 査 教 授 田 村 守
副 査 助 教 授 居 城 邦 治

学 位 論 文 題 名

Template Polymerization of Nucleobase Monolayer Having Diacetylene Group

(ジアセチレン基を有する核酸塩基単分子膜の鋳型重合)

DNA は核酸塩基であるアデニン・チミン、グアニン・シトシン間での相補的な水素結合によって二重らせん構造を形成するとともに、これらが鋳型となって遺伝情報を伝達している。最近、気液あるいは固液界面における相補的な塩基対形成が確認されており、界面における DNA を鋳型とした分子配列の制御と鋳型重合による分子量制御が可能となる。

本論文は、トポケミカルな光重合性を示すジアセチレンを有する核酸塩基誘導体を合成し、オリゴヌクレオチド水溶液の気水界面を分子認識場とする鋳型重合に成功したものである。著者は気水界面に核酸塩基を配列するために、アルキル鎖中にジアセチレンを有するアデニンおよびチミンの長鎖アルキル誘導体を新規に合成し、それらの単分子膜形成能を確認した。これらの化合物の等モル混合物は単分子膜中でワトソン・クリック型の塩基対を形成し、光照射によりポリジアセチレンになることを見出した。表面圧-面積等温線測定ならびに水晶振動子マイクロバランスによる重量測定から、混合単分子膜が気水界面において水相に溶解した核酸ポリマーとフーグスティーン型の塩基対を形成しアデニン・チミン・ウラシル塩基三量体を基本とする会合体が形成されることを明らかにした。この結果は、下水相のチミンまたはウラシルが鋳型としてアデニン・チミン混合単分子膜の鋳型となることを示している。そこで、核酸塩基の配列や塩基数が定まったオリゴヌクレオチドを鋳型として用いることで、混合単分子膜の重合制御を行った。塩基対混合単分子膜に重合基を持たないアルキルシトシン単分子膜を添加し、グアニンとチミンが交互に配列したオリゴヌクレオチドを鋳型として光を照射したところ、ポリジアセチレンの生成が抑制された。さらに、グアニン・グアニン・チミン配列のオリゴヌクレオチドを鋳型とすることで、より強い抑制効果が見られた。これは、オリゴヌクレオチドを鋳型とすることで、塩基対間にシトシン塩基が挿入されたためと結論した。

これを要するに、著者は、気水界面においてDNAを鑄型とした分子配列制御に成功したものであり、分子ナノ組織体設計の新たな指針を明らかにしたものとして、分子ナノサイエンスに対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格のあるものと認める。