

**【成果報告】**

これまでに多くの材料・素材が開発されてきたが、その製品のほとんどはモノづくりの学問である「合成化学」を用いて創出されてきたものであり、今後も「合成化学」が新しい材料の創出の基盤技術となることは間違いない。しかし一方、合成化学は大量の化学薬品、熱エネルギーを用いて実施されており、環境破壊、エネルギーの枯渇など抱える課題も多い。このような我が国が抱える背景の下、持続可能な社会の実現を見据えて、「反応試薬の削減」、「熱反応を必要としない反応」という特長をもつ新しい「合成化学」手法の確立が求められている。

本研究では、素材開発に放射線（X線）を活用することを目的に、放射線照射下で駆動する人工核酸の開発を進めた。X線は「溶媒が反応剤」「試薬の削減が可能」「熱反応が不要」というメリットをもち、これまで合成化学が抱える上述の課題を解決し得る。具体的には、X線を用いてDNAの相補鎖認識様式を制御することを目指した。すなわち、DNA二重鎖形成能を制御することによって、細胞内で駆動する核酸医薬品としての機能をX線で制御することを試みた。核酸塩基チミジン上にジスルフィド結合を介してアルキル基を導入した人工核酸を設計・合成し、X線照射下における反応特性を調べた。

本研究におけるDNA二重鎖形成制御システムをFigure 1に示す。DNA鎖上塩基部にジスルフィド結合を介してアルキル基を導入し、相補鎖とのハイブリダイゼーションを阻害する。一方、X線を照射し、ジスルフィド結合が開裂するとアルキル基が除去され、無置換のDNA鎖が生成する結果、二重鎖形成が再開される。

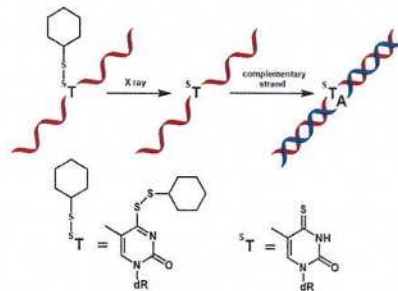


Figure1. Control of duplex formation by X-ray irradiation

このシステムを実現すべく、まず、チミジン塩

基の4位にジスルフィド結合を介してシクロヘキシル基を導入した核酸塩基担体(d<sup>SS</sup>T)を合成した(Figure 2)。チミジン塩基の水酸基をアセチル保護した後に、4位のカルボニル酸素を硫化した。続いて、保護基を除去した後に、シクロヘキシル基を導入し、d<sup>SS</sup>Tを得た。得られたd<sup>SS</sup>Tに低酸素条件下でX線を照射し、HPLCを用いて反応を追跡したところ、速やかにジスルフィド結合の還元、開裂が起こり、対応するチオチミジンが生成することが分かった。次に、DNA自動合成機を用いて、チオチミジン塩基をもつ3量体DNAオリゴマーを合成した後、チオチミジン塩基の4位にジスルフィド結合を介してシクロヘキシルを導入した。得られた3量体DNAオリゴマー(ODN1)に150(Gy)のX線を照射し、

HPLCを用いて反応を追跡したところ、低酸素条件下で効率よくジスルフィド結合の開裂が生じ、無置換DNAオリゴマーが生成した。この結果は、人工核酸の二重鎖形成をX線を用いて制御し得ることを示している。

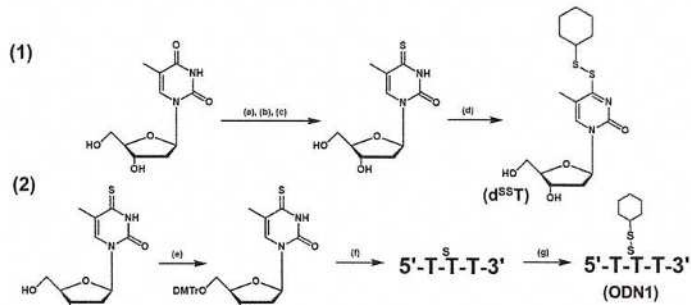


Figure2. (1) synthesis of d<sup>SS</sup>T (a)Acetic anhydride, pyridine, 93% (b)Lawesson's Reagent, 1,4-dioxane, 85% (c)NaOH, MeOH, 89% (d)N-(Cyclohexylthio)-phthalimide, 1,4-dioxane, PB(PH8.0), 51% (2) synthesis of DNA oligomer (trimer) bearing d<sup>SS</sup>T (ODN1) (e)DMTrCl, pyridine, 53% (f)Automated DNA synthesis (g)N-(Cyclohexylthio)-phthalimide, DMF, PB(PH8.0), 70%