

氏名(本籍)	いわうらりか 岩 浦 里 愛 (宮 崎 県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 3118 号		
学位授与年月日	平成15年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	化学研究科		
学位論文題目	Self-Assembly of Nucleobase- and Nucleotide-Appended Bolaamphiphiles and Their Structural Analyses (双頭型核酸塩基脂質および双頭型ヌクレオチド脂質の自己集合とその構造解析に関する研究)		
主 査	筑波大学併任教授	工学博士	清 水 敏 美
副 査	筑波大学教授	工学博士	細 見 彰
副 査	筑波大学教授	工学博士	鍋 島 達 弥
副 査	筑波大学教授	P h . D .	山 本 泰 彦

論 文 の 内 容 の 要 旨

第一章では、序論として、DNAを中心話題にして生体中での高次組織化と超分子構造の特徴について述べた。DNAは生体内で最も重要な分子の一つであり、遺伝やタンパク質合成など生命活動維持に欠かせない重要な役割を担っている。また、二重らせんを基本とした環状構造やスーパーコイル構造など、高次に組織化された超分子構造を形成する。これらDNAの機能発現と高次組織化は相補的な核酸塩基対形成を伴う精密な分子認識によって達成されている。そこで、本論文では(1) DNAの構成成分である核酸塩基、あるいはヌクレオチドを長鎖オリゴメチレン鎖の両端に連結した双頭型合成脂質の水中での自己集合挙動と得られたナノ構造を明らかにすること、(2) チミジル酸系双頭型脂質と鋳型となるオリゴアデニル酸との分子認識を利用した二成分系自己集合挙動を単一成分の場合と比較してその特性を明らかにすること、を主な目的として研究を実施したものである。

第二章では、種々の長さをもつオリゴメチレン鎖の末端に、アミド結合を介して両端がチミン、両端がアデニン、または片端にチミン、片端にアデニンを連結した双頭型核酸塩基脂質 (T-*n*-T, A-*n*-A, T-*n*-A, *n* = 9, 10, 11, 12) の効率的な合成法に関して論じた。

第三章では、種々の長さのオリゴメチレン鎖の両末端に、リン酸ジエステルを介してチミジン部位を導入した、言い換えれば、ヌクレオチドを親水部にもつ双頭型脂質 (dTp-*n*-dTp, *n* = 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20) の効率的な合成法を論じた。

第四章では、双頭型核酸塩基脂質がオリゴメチレン鎖長および核酸塩基の種類に依存して、二重らせんロープなどの特徴的な形態をもつ自己集合体を形成することを見いだした。T-10-Tはアキラルな分子であるにもかかわらず、ナノファイバーが階層的に集合して幅が1 μm、長さ数+ μmに及ぶ巨大な二重らせん構造を形成した。¹HNMRなどを用いた詳細な構造解析により、T-10-T自己集合体ではチミン部位の光二重化をトリガーとして二重らせん構造が誘起されるのに対し、T-10-TとA-10-Aの1:1混合系では相補的な核酸塩基対が形成され、チミンの光二重化が阻害されるため、ねじれないナノファイバーを与えるものと推察した。

第五章では、双頭型ヌクレオチド脂質を水中で自己集合させた結果、用いた水溶液のpHとオリゴメチレン鎖長に大きく依存して平板状結晶やベシクル、ナノファイバーなどの異なる構造を与えることを示した。特に、dTp-

20-dTpは幅数+ nmのナノファイバーを形成し、ゲル-ゾル転移温度が85℃の安定なハイドロゲルを与えた。FT-IR, UV スペクトル, および粉末XRDの結果などから, dTp-20-dTpの自己集合体はチミン部位の水素結合やスタッキング相互作用, オリゴメチレン鎖の疎水相互作用によって安定な層状構造を形成し, ナノファイバーを形成することを明らかにした。

第六章では, 自己集合によってナノファイバーを形成するチミジル酸双頭型脂質 dTp-20-dTp と, その相補的成分である種々の長さのオリゴアデニル酸 (3'-AMP, d(A)_n, n = 2, 4, 6, 8, 10, 20, 40) との水中での二成分系自己集合を行った。その結果, 鑄型となるオリゴアデニル酸の長さに強く依存して, n₂では均一な幅7~8nmをもつナノファイバーが生成することを見いだした。二成分系ナノファイバーをエネルギーフィルター付TEM, CDスペクトル測定によって詳細に検討した結果, dTp-20-dTp分子が一軸方向にスタックし, その分子両末端のチミンがそれぞれオリゴアデニル酸のアデニンとねじれながら相補的な核酸塩基対を形成し, 均一な幅をもつDNA類似のナノファイバーを形成していることが示唆された。

第七章では, dTp-20-dTpと種々のヌクレオチド (3'-AMP, 3'-TMP, d(A)₂) の混合水溶液を調製し, ESI-FTICRMS (Electrospray Ionization-Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry) によって分析した。その結果, 本測定手法により, 通常困難とされる水中でのチミン-アデニンの核酸塩基対形成による複合体を高感度に検出できることがわかった。

第八章では, 結論として, 核酸塩基あるいはヌクレオチドをもつ双頭型合成脂質が相補的水素結合形成を駆動力とした分子認識型自己集合により様々な自己集合体を形成し, その形態を精密に制御できることを論じた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

分子認識を利用した分子集合体形成や複合体形成に関する研究は, ノーベル化学賞受賞者であるJ.-M. Lehnらの研究に端を発し, これまで数多くの研究例が報告されてきた。本論文で得られた研究結果の特徴と従来までの研究との大きな差異は, 後者の研究のほぼ全てが有機溶媒中で行われる結晶構造形成や複合体形成であるのに対し, 本研究では, 溶媒系として一般に水素結合を形成させることが困難とされる水系を用い, しかも, 従来報告例のない種々の安定な一次元高次構造形成を達成している点である。これらの独創的な研究結果は, 長鎖炭化水素の水中での自発的会合力を駆動力として分子が集合し, そのあと, 多様な分子認識に基づく水素結合ネットワークを用いて一次元高次構造を形態制御しようと計画した, 著者の分子認識型自己集合の研究アイデアと双頭型脂質の分子設計の2点に依るところが大きい。電子顕微鏡や原子間力顕微鏡を用いた一次元高次構造の直接観察結果も, 詳細かつ慎重に非常に多くのサンプル測定をこなし, 再現性と正確性を十分に追試した努力に支えられたものである。特に, オリゴアデニル酸を鑄型にした, その相補的成分のチミジル酸双頭型脂質の自己集合挙動は最終的に, 鑄型の長さに依存したナノファイバの長さ制御, およびヘリカル構造の制御という, 分子レベルでのナノ構造制御を達成し, しかも従来知られていないDNA様ナノファイバーの発見につながった。生体中の複雑な高次構造を短期間で容易に再現・合成することはある意味で合成化学者の夢であるが, 本研究は合成分子の自発的組織化を通じてその意味を実現させたものである。分子集合体化学は有機化学合成はもとより, 種々の構造解析手法にも堪能である必要があり, しかもバイオ, 物質材料, 物理化学などの分野融合的な解釈力と種々の未知現象を解明する確固たる執念が必要である。筆者が本研究で得た研究結果は新鮮で独創的であり, 世界的に著名な国際誌への掲載につながり, 当該分野の更なる進展と展開に多大な貢献をした。

よって, 著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。