



Title	Purine Cyclonucleosideを含むOligonucleotideの合成と性質に関する研究
Author(s)	矢野, 純一
Citation	大阪大学, 1975, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31478
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【1】

氏 名・(本籍)	矢 野 純 一
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 4 3 8 号
学位授与の日付	昭 和 50 年 6 月 30 日
学位授与の要件	薬学研究科薬品化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Purine Cyclonucleoside を含む Oligonucleotide の合成と性質に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 池原 森男 (副査) 教 授 田村 恭光 教 授 吉岡 一郎 教 授 枡井雅一郎

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

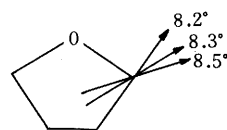
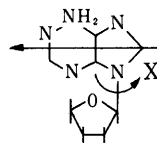
核酸における sugar に対する base の角度 (Base torsion angle, χ^1) が核酸の conformation におよぼす影響については、未だ十分に研究されていない。

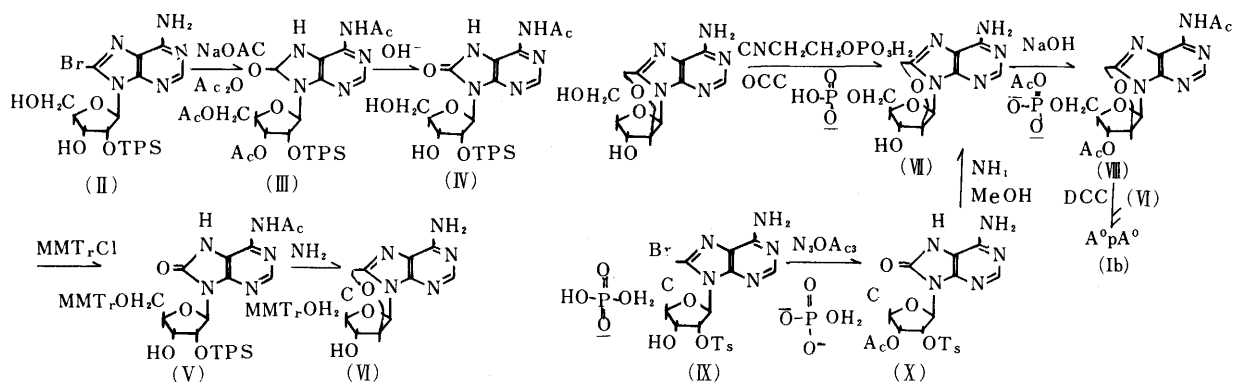
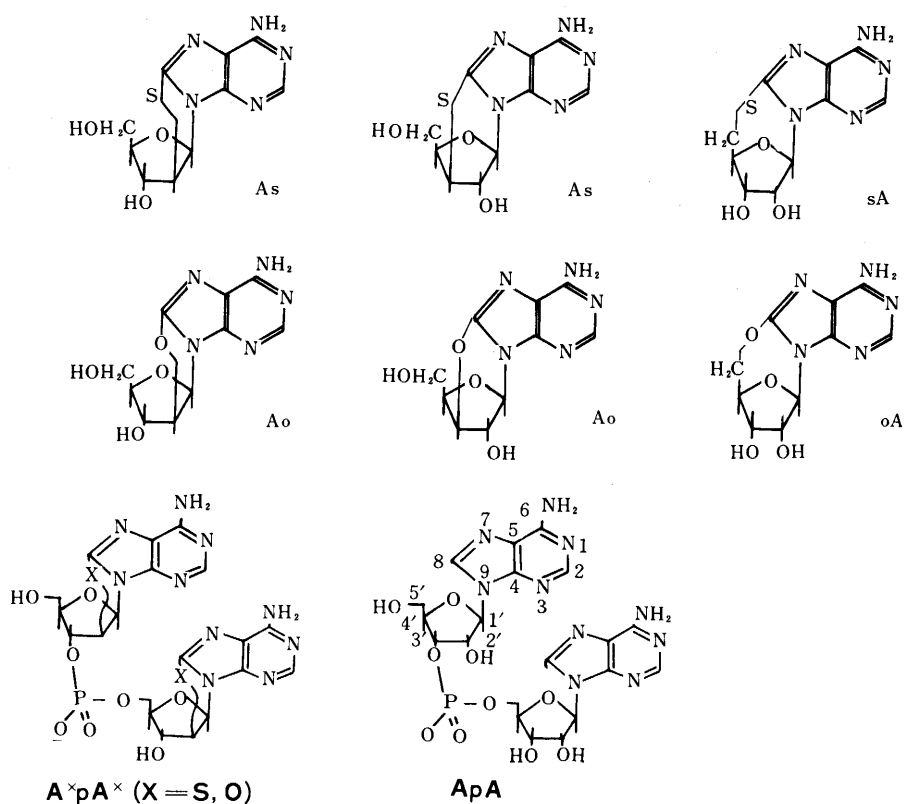
池原ら²⁾の合成した 8-cycloadenosine は purine 核の C-8 位と sugar 部の 2', 3' または 5'-C との間に, S または O の covalent linkage をもっている。S-cycloadenosine の X-ray 解析³⁾によれば, base torsion angle (χ) は 8, 2', 8, 3', 8, 5' についてそれぞれ 122°, 75°, 42° である。これらの cyconucleoside は base の sugar 上における回転が固定されており, 核酸の conformation の研究に有益であると考えられる。

池原, 上杉らは^{4, 5)} 8, 2'-S-cycloadenosine をもつ dinucleoside monophosphate ($A^s p A^s$) および O-oligomer を合成し, その性質を検討した結果, 天然とは逆の左巻きラセン構造をもつことを見出した。

著者は^{6, 7)} この知見をさらに検討するため, S を O に代えた, 8, 2'-cycloadenosine ($\chi \approx 108^\circ$) をもつ dimer $A^o p A^o$ を合成し, その性質を調べた。O-Cycloadenosine は, S-cycloadenosine に較べて, 分光学的性質が Adenosine と良く類似しており, 天然の核酸と比較検討するのにより適していると思われる。

$A^o p A^o$ の CD Spectra は図に示すように天然の ApA とは全く対称的な Cotton curve を与えた。



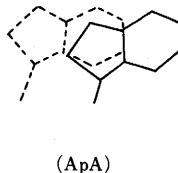
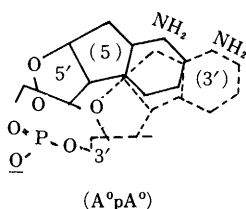
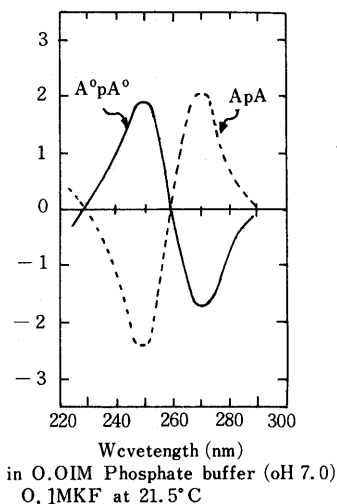


Ultraviolet Spectral Properties of $A^0 p A^0$

Compd	λ_{mn}^{117} , nm	ϵ at λ_{max}^0 ($\times 10^3$)	Hypochromicity ^b , %
$A^0 p A^0$	255	12.7	15
ApA	258	13.6	12
$A^n p A^0$	271	22.5	15

両者に見られるこのような excited splitting は、base—base interaction における helix の巻き、を反映している⁸⁾。このことから、左巻き構造は base 面が sugar C-2' 上 ($\chi = 110^\circ$) に位置することに

よって生じていることが確認できた。



この A⁰pA⁰ は A^spA^s 同様, ApA よりも hypochromicity は大きく, また CD の温度変化により得られる T_m は 31℃ 近くであり, ApA の 25℃⁹⁾ よりも熱的に安定であり, その原因は base の回転の固定によるものと考えられる。

このように D-sugar をもつ, Nucleoside より成る核酸においても, 天然の右巻きラセン構造と同程度以上の安定な左巻きラセン構造をもつことがわかった⁶⁾。

種々の Cycladenosine を含む Dimer の合成と性質

このように Base torsion angle (χ) が固定された cyclonucleoside をもった dimer は conformation の研究に有効であると考え, 種々の cyclonucleoside をもちいた dinucleoside monophosphate の合成と, その性質の検討を進めた。

合成した dimer を以下に示す。

a)

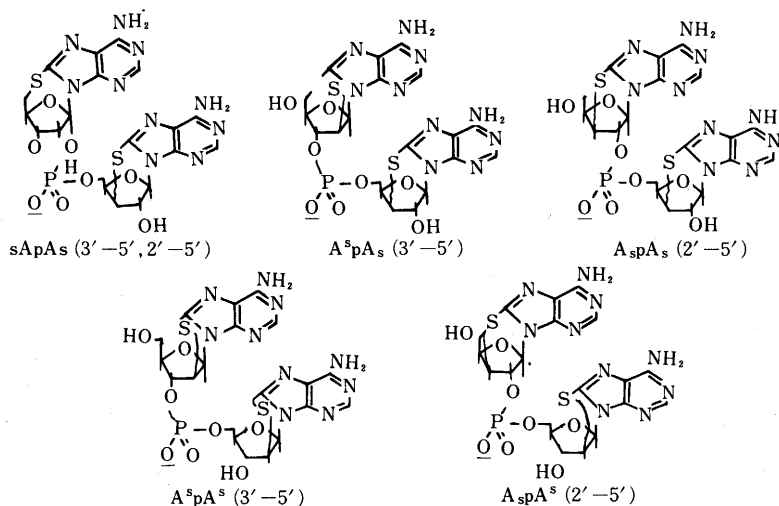


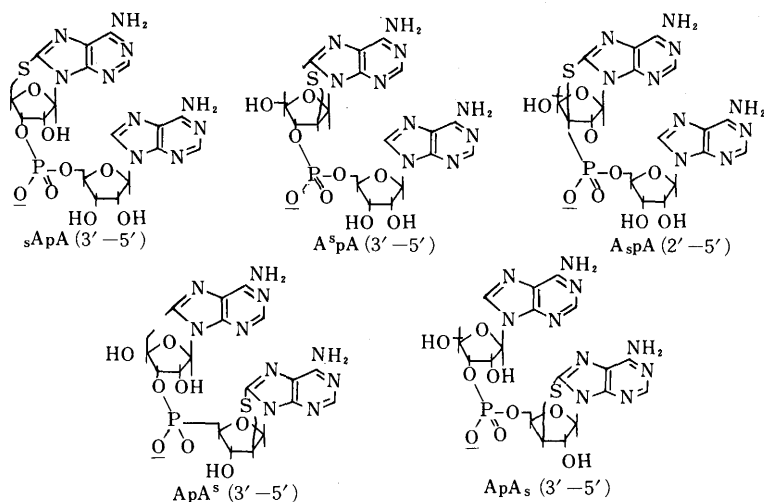
図 a) は cyclonucleoside 同士による dimer であり, 次頁に示す図 b) は, 一方に adenosine ($\chi = 12.5^\circ$) をもちいた dimer である。

これらの dimer の性質について以下, 代表的なものについて述べる。

AspAs.

AspAs は $\chi = 75^\circ$ に固定された 8,3'-S-cycladenosine からなる homodimer であり, その CD spe-

b)



pA^s は $A^s pA^s$ と良く似た左巻き構造のパターンを示している。

しかし、これらの heterodimer は互いの base 残基が異なる為、CD パターンのみでラセン構造の巻き方を決めることは困難である。

そこで poly U との interaction を調べた。 $A^s pA$ は poly U と ApA 同様2:1の三本鎖¹⁰⁾を形成したが、 $A^s pA$ は $A^s pA^{ss}$ と同様、interaction を示さない。

このことから CD パターンから推察したとおり、 $A^s pA$ は右巻き、 ApA^s は左巻き構造であることがわかった。

sApAs

$sApAs$ の CD カーブは、3'-5' phosphate linkage および 2'-5' phosphate linkage とともに monomer の加算した CD カーブと良く似ており、excited splitting は見られていない。しかし hypochromicity が 2'-5' 体は12.1%、3'-5' 体は8%見

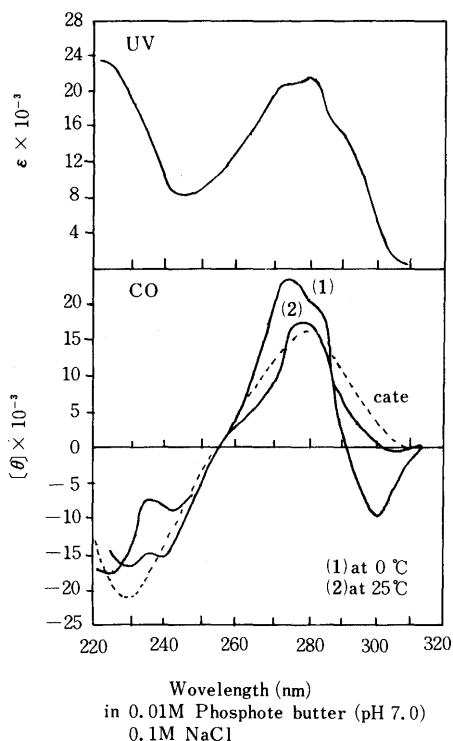
ctra は長波長側に負、短波長側に正の excited splitting を示しており、左巻き構造と考えられる。

しかし、25℃においてあまり stack しておらず、8, 2'-S-cycloadenosine からなる dimer ($A^s pA^s$, $A^0 p-A^0$) と比べるとかなり不安定な構造といえる。

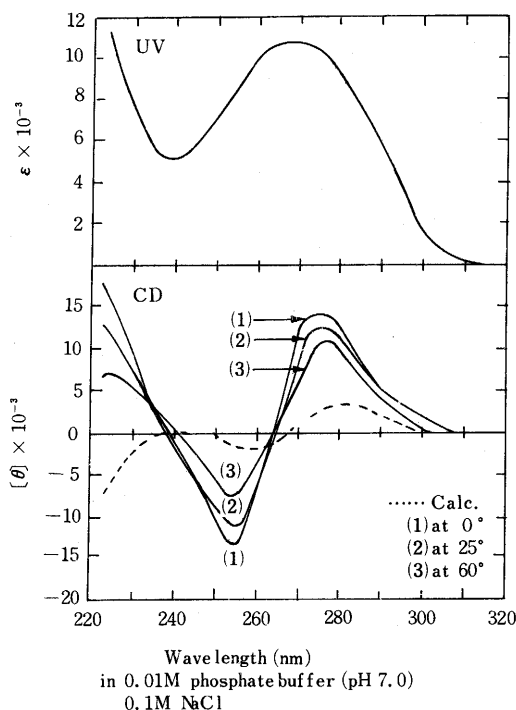
$A^s pA$ と ApA^s

Adenosine と 8, 2'-S-cyclo を含む dimer, $A^s pA$ と ApA^s の CD spectra を比較すると、 $A^s pA$ は ApA と良く似た右巻き構造、A-

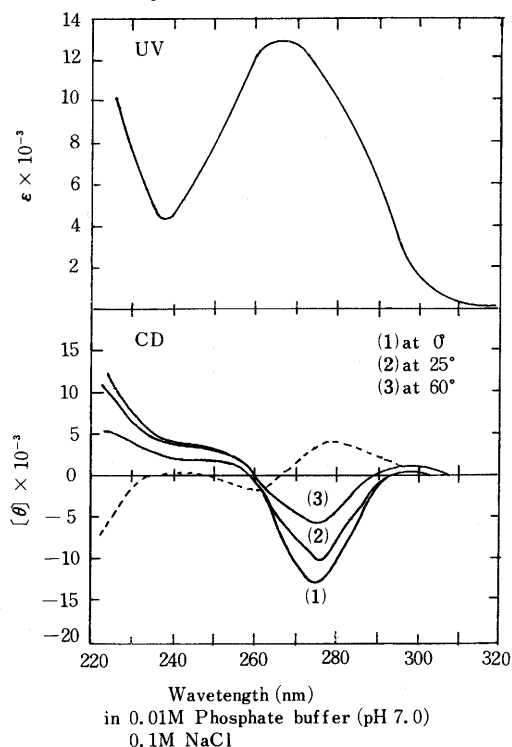
UV and CD Spectra of $AspAs$



UV and CD Spectra of A^spA



UV and CD Spectra of ApA^s



られることから base 間に screw axis のキラリティーをもたない Stack した構造が示される。

合成した化合物の測定結果を下 (次ページ) の表に示す。

考 察

Base torsion angle (χ) とその helical 構造の関連を右の図表に示す。

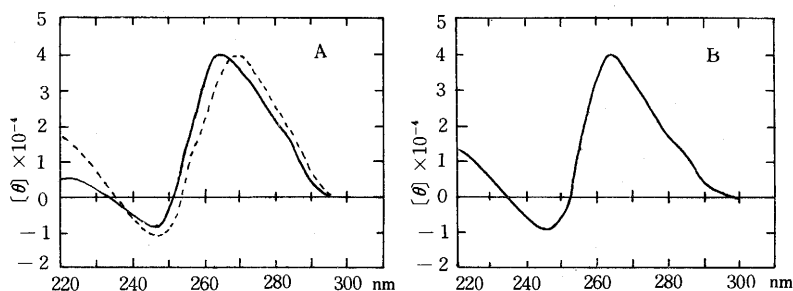
a) 合成した cyclonucleo-

side を含む dimer は $\chi=70^\circ$ から $\chi=122^\circ$ の通常、天然物には存在していない¹⁾領域において左巻き stack 構造をもつこと、および、その stacking の強さは、Base torsion angle が C-(2') 上に近くなるほど大であることがわかる。

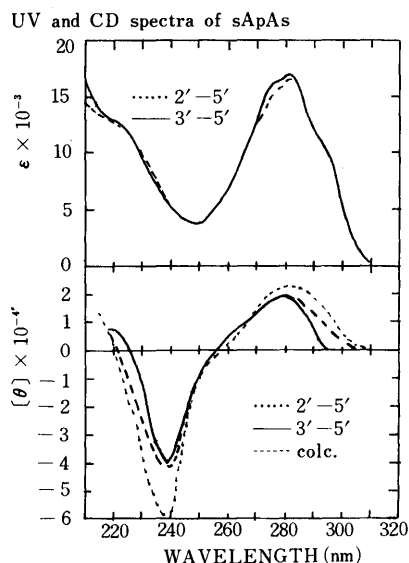
b) 天然の ApA は右巻き構造をもっており¹⁾、その base torsion angle は、ほとんど O-(1') 上にある ($\chi=0$) とされている。いままでに X-ray により解析された天然の dimer, oligomer 等において、右巻き stack 構造をもつものは、すべて $\chi=20^\circ$ までの領域に存在している。

c) 8,5'-S-Cycloadenosine ($\chi=42^\circ$) を 3'-unit にもつ dimer は右巻きでも左巻きでもない, non-

Interaction Studies of A^spA and ApA^s with Poly U
CD Spectra



(A) A^spA-2 Poly U (B) ApA^s-2 Poly U
Measured in 0.01M Tris HCl (pH 7.5), 0.01M MgCl₂ at -5°C
(.....) before mixing
(—) after mixing



Classification of Dimer Conformation

Conformation	Compound	Linkage	Degree of stacking
Left-handed stack	A ^s pA ^s	3'—5'	+++
	AspAs	2'—5'	+
	A ^s pAs	3'—5'	++
	AspA ^s	2'—5'	+++
	ApA ^s	3'—5'	++
	ApAs	3'—5'	++
Right-handed stack	A ^s pA	3'—5'	++
	AspA	2'—5'	+++
Non-helical stack	sApAs	3'—5'	++
	sApAs	2'—5'	+++
	sApA	3'—5'	+

セン構造の巻きが5'—nucleotide unitに依存していることが推察できる。このことはSundaralingam¹²⁾の5'—nucleotide unitの“rigidity”の概念と一致し、この説を cyclonucleoside を含む dimer をもちいた知見によって明確に立証できたものと思われる。

結 論

種々の cycloadenosine を含む dimer を合成しその性質を検討することによって、

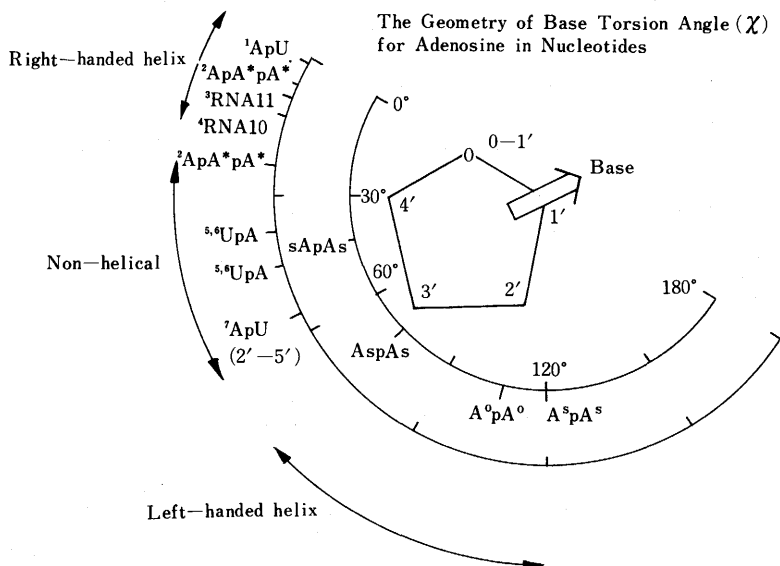
- (1) 天然と同じ右巻き構造をもつもの。天然とは逆の左巻き構造をもつもの。またその中間ともいえる non helical な構造をもつ、各種 dimer を得た。
- (2) また、これらの性質を検討することにより、sugar 部(D-ribose)に対する base torsion angle (χ)の分布により、右巻き、および左巻き、また non helical な stacking 様式に分類できることを明らかにした。
- (3) これらの知見から核酸の conformation 変化は、5'—nucleotide unit の“rigidity”に強く依存して

helical な構造をもっている。自由度の少ない3'—unitがこのような base torsion angle の領域にある場合、helical な backbone conformation が取りにくいと思われる。

また X—ray 解析において、helical な構造をもっていなかった時の adenosine 残基の base torsion angle (χ)がこの領域に存在することは興味あることである。

d) ApA は右巻き、A^spA^s (および A^opA^o 等)は左巻き構造をもっている。

興味あることは、A^spA は右巻き、ApA^sは左巻き構造であった。このことから各 base 残基が右まきと左まきに適する base torsion angle (χ)をもつ場合、ラ

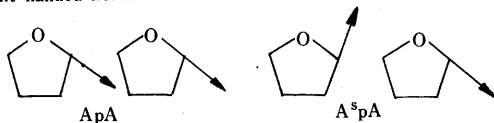


References

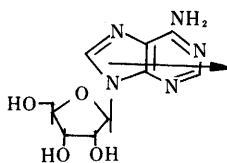
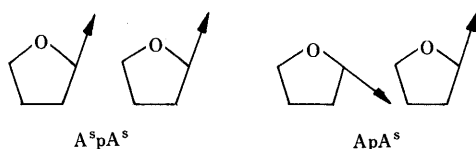
- (1) A. Rich et al. Nature, 243, 150(1973)
- (2) W. Saenger et al. Nature New Biol., 246, 161(1973)
- (3) S. Arnott et al. Biochem. Biophys. Res. Commun., 48, 1392(1972)
- (4) S. Arnott et al. Acta Cryst. B25, 2192(1969)
- (5) H. M. Berman et al. J. Mol Biol., 66, 403(1972)
- (6) M. Sundaralingam et al. Biochemistry, 11, 3112(1972)
- (7) E. Scheffter et al. Acta Cryst., B25, 895(1969)

The Concept of a "Rigid" 5'-Nucleotide Unit

Right handed helix



Left handed helix



おり、それにもとづく backbone conformation の変化 (特に P—O bond のまわりの回転) によって、右巻き構造、左巻き構造を取ることを見出した。

論文の審査結果の要旨

本研究は核酸構成成分のプリンヌクレオシドの塩基部の回転を固定したシクロヌクレオシドにつき、dinucleoside phosphate 10 数種を合成して、その回転角と立体構造の関係を主に U.V. 及び C.D. スペ

クトルから推論したものであり、次の様な結論を得た¹。1) 8,2'又は8,3'-シクロヌクレオシドを3'側に含むものは全て左巻き *stacking* を持つ。2) アデノシンを3'側に含むものは全て右巻き *stacking* を持つ。3) 8,5'-シクロヌクレオシドを5'側に含むものは全て *non-chiral* な構造を持つ。この結果 *dinucleoside monophosphate* に於いては、各モノマーの主体構造の特異性に従って全立体構造が決定されることが判明し、天然の核酸の立体構造の決定に分る重要な因子として塩基 *torsion angle* のあることを立証した。

以上の研究は博士号請求に価するものと判定する。