

Title	固相法によるオリゴヌクレオチドの合成研究
Author(s)	三好, 健一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/33180">http://hdl.handle.net/11094/33180</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	み 三	よし 好	けん 健	いち 一
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	5561	号	
学位授与の日付	昭和57年3月16日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	固相法によるオリゴヌクレオチドの合成研究			
論文審査委員	(主査) 教授 芝 哲夫			
	(副査) 教授 泉 美治 教授 池中 徳治 教授 池原 森男			

### 論文内容の要旨

合成オリゴヌクレオチドは、ソマトスタチン、ヒトインシュリンの人工遺伝子の合成を可能にし、また、ハイブリッド法のためのプローブ、DNA、RNAの塩基配列決定のためのプライマーなどとして、分子生物学、遺伝子工学の研究に利用されている。これらの研究においては、種々の塩基配列をもつ多くのオリゴヌクレオチドを、純度よく、短時間に合成する必要がある。最近、液相法によるオリゴヌクレオチドの合成は、トリエステル法やブロック縮合法などによって、収率の向上化、合成の迅速化がなされているが、固相法による合成法は、未だ実用的な方法が確立されていない。

本研究は、オリゴヌクレオチドの化学合成の領域において、固相法を有用な方法とする目的で検討したものである。まず、ポリアクリルモルホリド樹脂を用いたオリゴヌクレオチドの合成を通じて、3つの大きな課題であった、ヌクレオシドの樹脂への導入方法、各縮合段階での収率の検定方法、および最終生成物からの目的物の分離精製方法を次のようにして解決した。すなわち、(1)ヌクレオシドをコハク酸誘導体として、アミノ樹脂と縮合することにより、温和で効率のよいヌクレオシドの導入方法を見出した。(2)縮合後除去するトリチル基を比色定量することにより、迅速で簡単な収率の検定方法を見出した。(3)ジヌクレオチドまたはトリヌクレオチドブロックを縮合に用いることにより、最終生成物から、目的のオリゴヌクレオチドを容易に分離精製することができた。この結果、従来液相法では合成が困難であった長鎖オリゴマー（鎖長31）の合成をも行うことができた。

次に、ポリスチレン樹脂を用いて研究を行い、縮合収率などの比較検討をした結果、ポリスチレン樹脂もポリアミド樹脂と同様よい支持体となることを明らかにした。

さらに、ホスホモノトリアゾリド法を、固相法に応用し、縮合剤を用いる方法との比較検討を行っ

た。その結果、トリアゾリド法もよい鎖長の延長方法であることを明らかにした。

また本研究によって開発した固相合成法を用いて、消化管ホルモンの一種であるセクレチンの人工遺伝子の合成を行うことにより、固相合成法が、迅速で、簡単なばかりでなく、収率よく、しかも純度よくオリゴヌクレオチドを合成できることを証明することができた。

## 論文の審査結果の要旨

遺伝子工学においては目的のペプチドあるいは蛋白質のアミノ酸配列がわかっていると、それに対応する遺伝子を化学合成 DNA と生体から分離される遺伝子とのいわゆる組み換え操作によってつくり大腸菌などから有用なペプチドホルモンなどの生産が可能であることが知られている。この場合、種々の目的のために、DNA の有機合成というものが生体から分離できないヌクレオチドを合成し得るという点できわめて重要な意義を担っている。

三好君の研究はそのような DNA の有機合成法に根本的な再検討を加えて新たにホスホトリエステル法を用いる固相合成法を確立し、その方法を用いて種々のオリゴヌクレオチドの合成を行ったばかりでなく、膵液分泌を促進する作用がある消化管ホルモンセクレチンの人工遺伝子の合成に始めて成功したものである。

同君はまず核酸の固相合成法のための基本的方法をポリアクリルモルホリド樹脂を用い、特に保護基の選択、反応の進行状況の定量法などに種々検討、改良を加えて、ノナデカチミジル酸、続いて一定の塩基配列を持つヘントリアコンタヌクレオチドの合成を行った。ついでホスホトリエステル法を用いる場合のポリスチレン樹脂とポリアクリルアミド樹脂の優劣について検討した後、固相法における欠点を除去するために縮合剤を用いないトリアゾール法の固相法への応用を研究し、遂に実際の人工遺伝子合成に耐え得る簡便且つ効率的なヌクレオチド合成法を確立した。最後にこの方法をアミノ酸27箇より成るペプチドホルモンであるブタセクレチンの人工遺伝子の合成に適用して見事に成功した。これは固相法による人工遺伝子合成の世界における最初の例となったばかりでなく、同君の合成した人工遺伝子を用いて、日本における最初の遺伝子工学による有用ペプチドホルモンの合成が行われた。

以上のように三好君の固相法によるオリゴヌクレオチド合成法の研究は単に有機化学における基礎的研究としての意義のみならず、遺伝子工学における実用的価値が実証されたものであり、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。