



Title	合成ポリヌクレオチドの二重らせん構造に関するX線回折研究
Author(s)	箱嶋, 敏雄
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33192">https://hdl.handle.net/11094/33192</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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

## 【 4 】

氏名・(本籍)	はこ 箱	しま 嶋	とし 敏	お 雄
学位の種類	薬	学	博	士
学位記番号	第	5 6 3 3	号	
学位授与の日付	昭和 57 年 3 月 25 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	合成ポリヌクレオチドの二重らせん構造に関する X 線回折研究			
論文審査委員	(主査) 教授	富田 研一		
	(副査) 教授	池原 森男	教授 佐々木喜男	教授 枡井雅一郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

核酸分子の構造と機能を考える時、自己認識部位としての塩基と骨格部分としての糖一磷酸鎖に分けて考えることができる。

遺伝情報の伝達には 4 種類の塩基が特異的に相互作用し、グアニンとシトシンおよびアデニンとチミン (またはウラシル) という塩基間に選択的な水素結合対を形成することが必要である。しかしアデニンとチミン (またはウラシル) の対に於てモノマーレベルの塩基対結晶には Watson-Crick 型水素結合対はなく、溶液中での会合平衡の解析や量子力学に基づく会合エネルギーの計算でも Watson-Crick 型対は最も強い相互作用ではない。そこで著者は Watson-Crick 型以外の水素結合対をもつプリン・ピリミジンの相補的二重らせん構造の存在を検討するためにアデニンの 2 位に導入された置換基 (メチル基またはメチルチオ基) のために Watson-Crick 型水素結合対は立体的に形成できないという報告のある 2-置換ポリアデニル酸・ポリウリジル酸 [(1:1) 複合体] の X 線繊維回折法による構造解析を行った。いずれの置換基 (メチル基またはメチルチオ基) をもつ複合体からも本質的に同じ回折像が得られ、解析の結果これらが Hoogsteen 型水素結合対をもち 2 本の糖一磷酸鎖の極性 (5'→3') が平行な二重らせん構造をとっていることが明らかになった (図 1)。この構造は既に報告されている分光学的研究の結果もよく説明している。とりわけ、溶液中での低い融解温度に対応する構造要因として 2 本の糖一磷酸鎖が、逆平行の Watson-Crick 型二重らせんと対照的に、互いに接近するために生じた 2 本鎖間の立体的な障害、特に負に荷電した酸素原子どうしの接触が明らかとなった。このことより、ポリマーレベルでのアデニンとウラシルの相互作用は塩基間に形成される水素結合のみではなく、その水素結合に関与していないウラシルのカルボニル酸素原子 O(2) と他方の鎖

の磷酸素原子との反発によって本来競合すべき相互作用（Hoogsteen型水素結合対）が与える構造が熱的に不安定となっているために実質的にはWatson-Crick型対のみを与えているものと推論された。

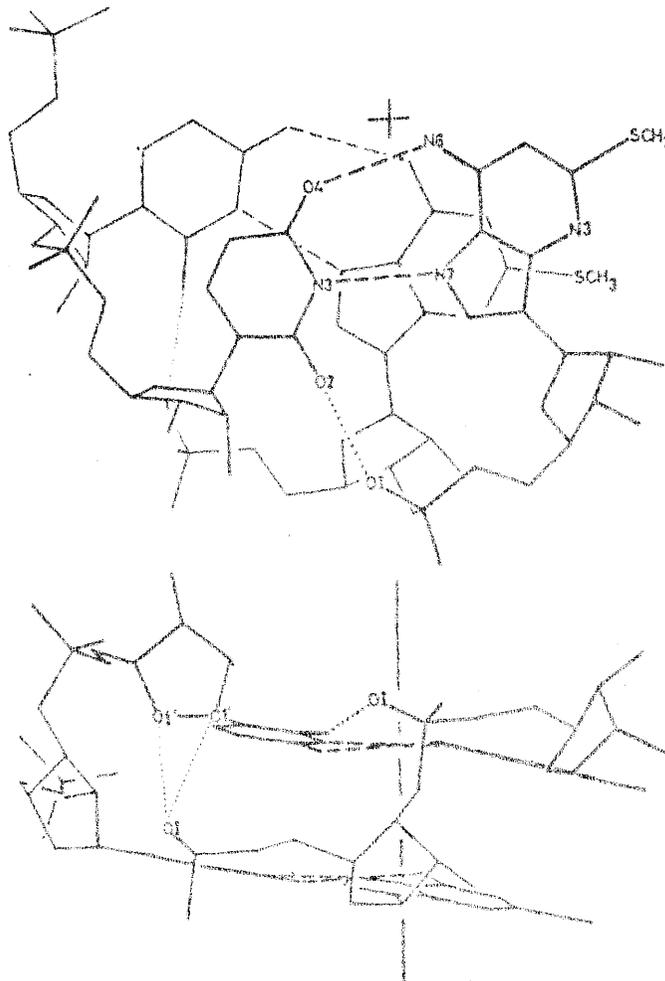


図1

骨格部分に注目すると核酸は糖にリボースをもつかデオキシリボースをもつかでRNAとDNAとに分れ、両核酸の差異については古くから議論されてきた。その中で薬学的見地からも興味ある問題として核酸によるインターフェロン誘導現象がある。よく知られているようにインターフェロンは二本鎖RNAによっては誘導されるがDNAではその活性がなく、糖の2'-水酸基が誘導活性の必要条件に数えられていた。最近この定説に反し2'-水酸基を他の置換基（アジド基やフッ素原子）に変換した2'-置換ポリイノシン酸とポリシチジル酸との二本鎖複合体にも強い誘導活性があることが報告された。著者はこれら2'-置換ヌクレオシドの単結晶X線解析を行い、先ずモノマーレベルでそれらの分子構造を調べた。構造解析した2'-フルオロヌクレオシドはイノシン、グアノシンおよびアデノシンの誘導体（dIf1, dGf1およびdAf1）であり、一方2'-アジドヌクレオシドは3',5'-O-ジアセチルイノシンの誘導体（ac<sub>2</sub>dIz）である（表1）。特に2'-フルオロヌクレオシドについては多くの結晶学的に独立な分

子の構造 (合計11個) を得ることができたので, ケンブリッジ結晶学的データファイルに収集してあるヌクレオシドとヌクレオチドの結晶構造データ (177個の1- $\beta$ -D-フラノシド) と分子コンホメーションの比較検討を行った。X線解析した2'-フルオロヌクレオシドは全てフラノース環のC(3')炭素原子が環面からC(5')炭素原子の方へとび出したC(3')-endo型コンホメーションをとっており, このコンホマーの存在率が高いというNMRによる溶液中での研究結果とよく対応している。しかし他のフラノシドとは異なり, C(3')-endo型コンホメーションの中でも特にC(4')炭素原子がC(5')炭素原子と逆の方へずれたC(3')-endo-C(4')-exoコンホメーションを好むことが明らかとなった。しかもこのコンホマーはリボフラノシドでも比較的高頻度に現われることがわかった。

表1.

molec.	furanose conformation	glycosyl conformation	C(4')-C(5') conformation
dIf1 A	C(3')-endo-C(4')-exo	syn	gauche-gauche
dIf1 B	C(4')-exo-C(3')-endo	anti	gauche-gauche
dGf1 A	C(4')-exo-O(1')-endo	syn	gauche-trans
dGf1 B	C(3')-endo-C(4')-exo	anti	gauche-gauche
dGf1 C	C(3')-endo-C(4')-exo	anti	gauche-gauche
dGf1 D	O(1')-endo-C(4')-exo	anti	gauche-trans
dGf1 E	C(4')-exo-C(3')-endo	anti	gauche-gauche
dGf1 F	C(3')-endo-C(2')-exo	high anti	gauche-gauche
dGf1 G	C(3')-endo-C(2')-exo	high anti	gauche-gauche
dGf1 H	C(3')-endo-C(2')-exo	high anti	gauche-gauche
dAfl	C(3')-endo-C(2')-exo	anti	gauche-trans
ac <sub>2</sub> dIz	C(3')-endo-C(4')-exo	syn	gauche-trans

次に2'-置換ポリイノシン酸・ポリシチジル酸 (二本鎖複合体) のX線繊維回折実験および解析を行った。得られた回折像よりこれらはポリイノシン酸とポリシチジル酸から成る二本鎖RNAとは少しづつ異なる二重らせん構造をしていることが明らかとなった。2'-アジドポリイノシン酸・ポリシチジル酸は二本鎖RNAが通常とるA型RNA構造と同じ11回らせん対称をもつが, らせんのピッチがやや短く (29.7Åと30.9Å), また二重らせん分子の実効直径は大きい (23.3Åと22.0Å)。2'-フルオロポリイノシン酸・ポリシチジル酸はこれらと異なり12回らせん対称をより好むが, A'型RNA構造 (12回らせん対称をもつ) とらせんのピッチ (35.6Åと36.0Å) も実効直径 (22.6Åと22.7Å) も殆ど同じであった。しかし, 両者ともRNAが選択的にとるA型カテゴリーに属する二重らせん構造 (フラノース環がC(3')-endo型コンホマー) のみとり, B型カテゴリーの二重らせん構造 (フラノース環がC(2')-endo型コンホマー) を好むDNAとは著しく異なることがわかった。これはインターフェロン誘導活性に必要なのは2'-水酸基自身ではなく, それによって支えられている二次構造であるという見解の基礎となる。2'-フルオロポリイノシン酸・ポリシチジル酸が12回らせん対称を好む性質は上述したモノマーレベルでの検討結果を用いてよく説明することができた。すなわち, フラノース環がC(3')-endo-C(4')-exoコンホマーであるモデル (図2) が他のフラノース環コンホマーをもつモデルより, 実測と計算強度の対応もモデルの立体化学も, 優れていることがわかった。上記のようにこの構造はA'型RNA構造と殆ど同じであるから, 既に報告のあるA'型RNAモデルと競合すること

になる。しかしフラノース環がC (3')-endo-C (2')-exoコンホマーで組み立てられた従来のモデルには立体的に許されない非常に短い原子接触 (2'-水酸基の酸素原子と3'側の残基のC (5')炭素原子およびH (5')水素原子) が存在するのに対して、今回のモデルではこの接触が大きく緩和されていることから、A'型RNA構造もむしろC (3')-endo-C (4')-exoコンホメーションをとっているものと考えられる。

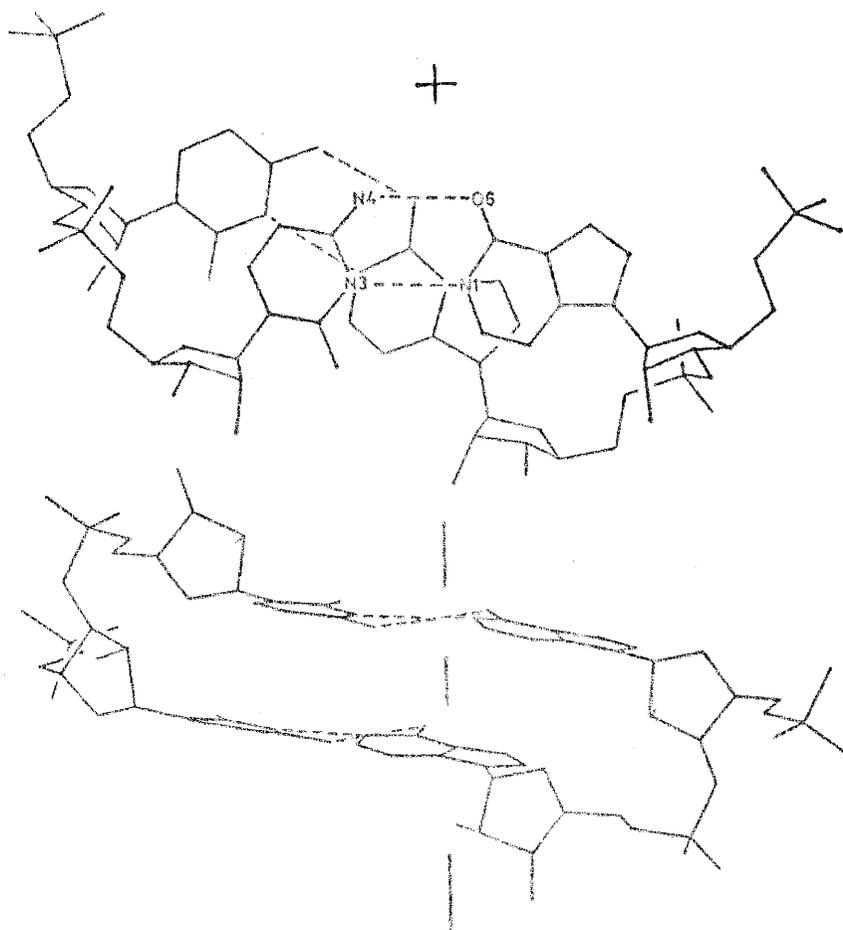


図2.

グアノシンの2'-フルオロ誘導体の構造解析は結晶学的にも意義深い。この結晶は非対称単位中に独立な8分子 (および12分子の水) を含んでおり、それぞれが大きく異なったコンホメーションをもっていた (表1. dGfl)。このように多数のコンホマーを単位格子中にもつ結晶構造の報告はこれまでは皆無でしかも2500 Daltonsもある大きな構造単位を直接法のみで決定した例もない。得られた結晶構造について主な分子間相互作用である塩基間水素結合、塩基面間の重なり、糖の塩基に対する配向および糖のコンホメーションと空間充填との関係などについての検討を行い、特に糖の塩基に対する配向と塩基面間の重なりとの間に興味ある相関のあることを見出した。一方、直接法による位相決定においては、規格化構造因子の分布、位相関係式の強さとその分布および初期位相組の選択につ

いて検討し、強い位相関係式の分布が特定の方向に集中した時にはその方向の規格化構造因子の位相付けが容易になること、およびその場合に必要な規格化構造因子の総数は低分子化合物の位相決定の場合に比べて少数で十分なことなど新しい知見を得ることができた。

### 論文の審査結果の要旨

DNAおよびRNAの分子構造にみられるように、ポリヌクレオチドの二重らせん構造は核酸の生物活性との関連において極めて重要な意味をもっている。箱嶋君は合成ポリヌクレオチド、すなわち2-置換ポリアデニル酸・ポリウリジル酸（1：1）複合体ならびに2'-置換ポリイノシン酸・ポリシチジル酸（1：1）複合体の詳細なX線回折研究を行い、前者がHoogsteen型塩基対をもつ平行二本鎖右巻きらせん構造であり、後者がWatson-Crick型塩基対をもち糖のコンホメーションがC3'-endo-C4'-exo型の新しい逆平行二本鎖右巻きらせん構造であることを明らかにした。箱嶋君はさらに2'-置換プリンヌクレオシドの単結晶X線解析を行い多くの新しい知見を得た。

これらの業績は、核酸の構造化学および分子生物学の分野に貢献するところ大であり、薬学博士を授与するに値する研究であることを認める。