

| | |
|--------------|---|
| Title | 2' 置換ポリヌクレオチドの合成と性質に関する研究 |
| Author(s) | 垣内, 信子 |
| Citation | |
| Issue Date | |
| Text Version | ETD |
| URL | http://hdl.handle.net/11094/900 |
| DOI | |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

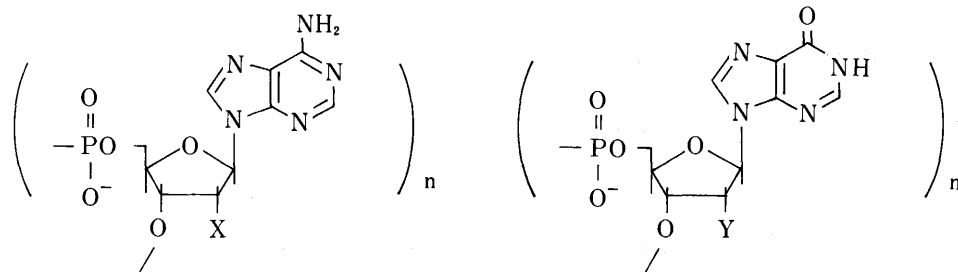
| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 垣内信子 |
| 学位の種類 | 薬学博士 |
| 学位記番号 | 第 4585 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 54 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 薬学研究科 薬品化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当 |
| 学位論文題目 | 2' 置換ポリヌクレオチドの合成と性質に関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 池原 森男 (副査) 教授 枅井雅一郎 教授 佐々木喜男 教授 冨田 研一 |

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

核酸は生体を構成する重要な成分の一つである。天然の核酸には大別して DNA と RNA の二種類が存在する。これら二者は互いに生体内での存在部位も、担っている役割も異なっている。DNA と RNA の化学構造上の相異点は、糖部 2' 位に水酸基が置換しているか否かということである。従って、2' 位異換基の核酸の構造全体に及ぼす影響を考察するのは興味あることである。

今回演者は、2' 位にアジド基、アミノ基、及びハロゲンを導入した 2' 置換ポリヌクレオチドを合成し、その物理化学的性質、並びに生物活性に関する研究を行った。



- X=N₃: poly(Az)
- NH₂: poly(Aa)
- F : poly(Af)
- Cl : poly(Acl)
- Br : poly(Abr)

- Y=N₃: poly(Iz)
- F : poly(If)
- Cl: poly(Icl)

本 論

第1章 ポリ(2'-アジド-2'-デオキシプリンヌクレオチド)の合成と性質

アジド基は電気陰性度は水酸基に似ており、その大きさは水酸基より大きい。池原らにより8,2'-O-サイクロアデノシンを出発原料とし、2'-アジド-2'-デオキシシアデノシン(Az)を合成するルートが開発された¹⁾。AzはFig. 1のようにジリン酸化を行い、polynucleotide phosphorylase⁴⁾を

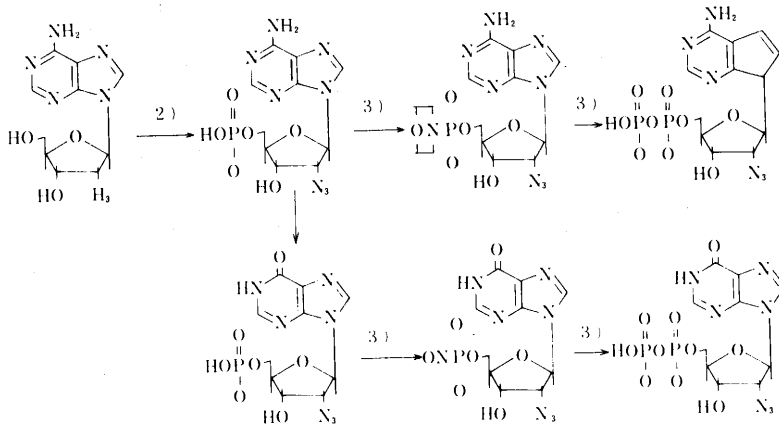


Fig. 1.

用いて、ポリヌクレオチドとした。分離精製は Sephadex G-50ゲルろ過で行い、void volume に溶出される poly (Az), poly (Iz) をえた。

poly (Az) は、0.15 M Na⁺ イオン濃度 pH 7.0、室温において Fig. 2 のような、UV、CD スペクトルを示す。これは poly (A) の UV、CD スペクトルによく似ている。UV スペクトルは λ_{max} 257nm



UV absorption spectrum of poly (Az) at pH 7.0. CD spectrum of poly (Az) at pH 7.0.

Fig. 2

で、分子吸光係数(ϵ)は9780で、モノマーよりのhypochromicityは35%であった。これはpoly(A)のhypochromicityと同じであり、poly(Az)はpoly(A)と同程度のstackingをしていることが判る。一方CDスペクトルの分子だ円率はpoly(A)の60%程度であった。又、poly(Az)はpoly(U)と0.04 M Na⁺イオン存在下mixingすると30分後の測定では1:1、0.15 M Na⁺イオン濃度、overnightの測定では1:2のcomplexの形成が観測された。これらのcomplexのmelting temperature

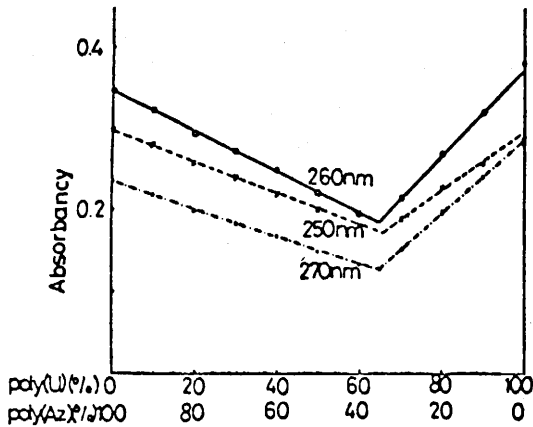
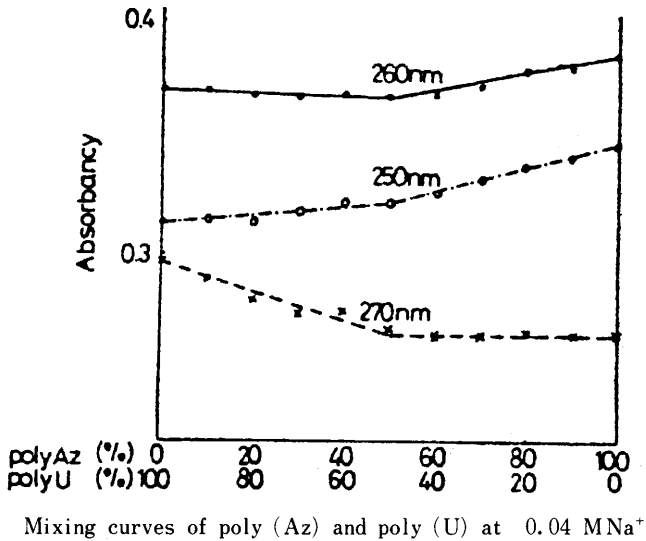
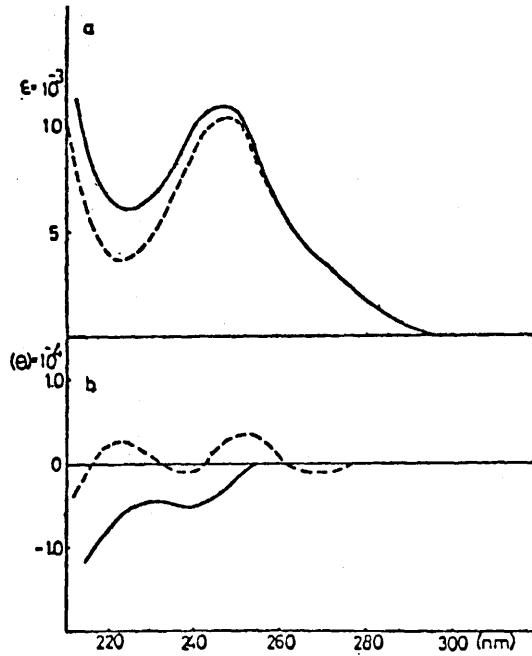


Fig. 3

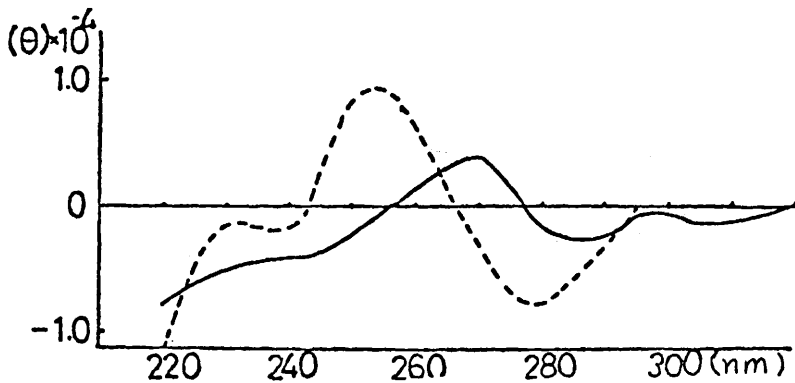
(T_m) は、0.04 M Na イオン濃度で46°C、0.15 M Na イオン濃度で65°Cであり、poly (A)・poly (U) complex の場合が51°、62°であるので、ほぼ同程度の熱的安定性を有している。

poly (Iz) の0.15 M Na イオン濃度、pH 7.0、室温でのUV、CD スペクトルを Fig. 4 に示す。poly (I) では225、225nm 付近に正の Cotton 効果があるのに対して、poly (Iz) ではほとんど正の Cotton 効果はあらわれていない。0.95 M Na イオン濃度では、poly (I) の CD スペクトルに似ているが、peak が長波長側にシフトしており、Cotton 効果の amplitude も小さい。poly (I) に比べてより flexible な構造をとっているものと思われる。0.15 M Na イオン存在下、pH 7.0 で poly (Iz) と poly (C) の mixing を行うと、poly (Iz) 50%のところに屈曲点がある。poly (Iz)、poly (C) = 1 : 1 complex の形成が観察された。この poly (Iz)・poly (C) complex の T_mを種々の塩濃度で測定し、この値を log₁₀[Na⁺] に対してプロットすると Fig. 7 のようになり、直線関係が



U. V. and C. D. spectra of poly (Iz) and poly (I) in neutral solution containing 0.15 M Na⁺
 — poly (z), ---- poly (I)

Fig. 4.



UV spectra of poly (Iz) and poly (I) in neutral solution containing 0.95 M Na⁺: — poly (z) ---- poly (I)

Fig. 5

成立する。いずれの Na イオン濃度においても, poly(I)·poly(C) poly(dI)·poly(C) の中間の値である。このように poly(Iz) は poly(C) との complex の安定性において, ribo 体と deoxy 体の中間の性質を有していることが判った。このように, 2 位のアジド基は, poly (Az) においては水酸基と同じ効果を有しているのに対して, poly(Iz) では若干の違いがあり, 分子全体に影響を与えていることが判った。

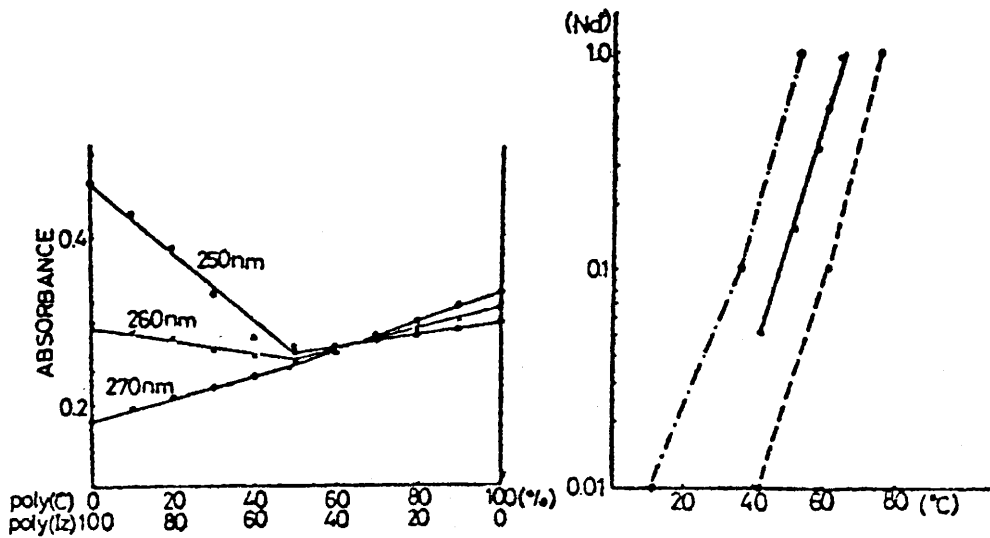


Fig. 6. Mixing experiment of poly(Iz) and poly(C)

Fig. 7. Relationship of Na^+ concentration and T_m of poly(Iz)
 poly(C) (—), poly(I)·poly(C) (----) and poly(dI)
 poly(C) (-·-·-·-).

第2章 ポリ(2'-アミノ-2'-デオキシアデニル酸)の合成と性質

アミノ基の電気陰性度は水酸基と大きく異っているが、分子量はよく似ている。poly(Aa)の合成の基質となる AaDP は AzDP より接触還元によって合成し、polynucleotide phosphorylase による重合反応、分離精製の後、13%の収率で poly(Aa)を得た。0.15 M Na イオン存在下25°Cの UV

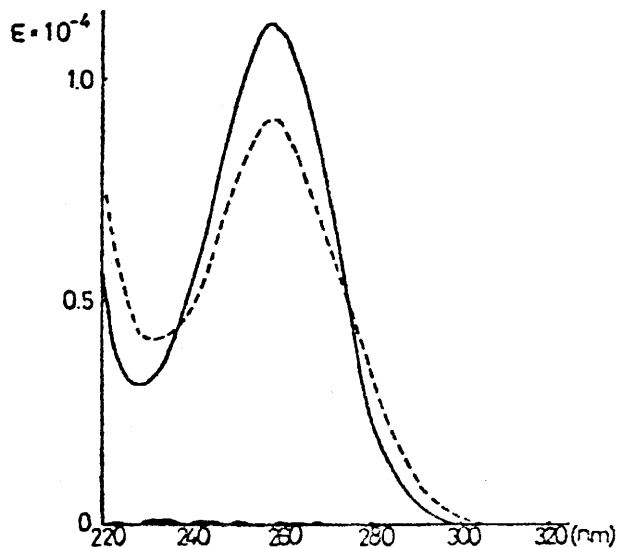


Fig. 8. UV absorption spectra of poly(Aa), — at pH 7.0, --- at pH 3.

スペクトルは Fig. 8 のようになる。pH 7.0 で λ_{max} 258nm、分子吸光係数 11200 であった。ヌクレオシドよりの hypochromicity は 25% で、poly(A) に比べて著しく小さい。pH 7 以下で吸光度の急激な減少を生じる。pH 6.3 では λ_{max} は変化しないが、hypochromicity は 40% となる。このとき CD スペクトルは Fig. 9 のようになる。pH 7.0 では AaDP とよく似た CD スペクトルを示し、この

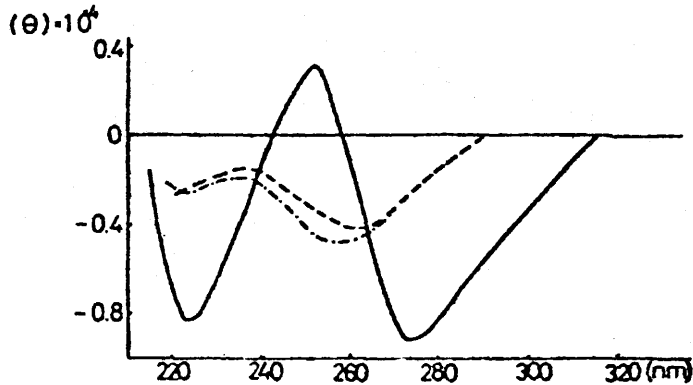


Fig. 9 a CD spectra of poly (Aa) taken at 20°(—), 46°(---) and 66°(-·-·-).

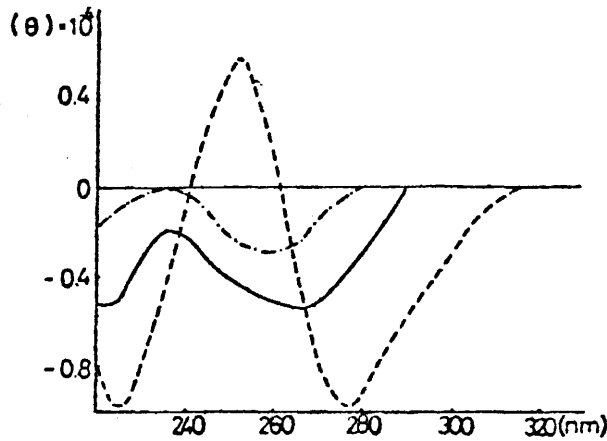


Fig. 9-b CD spectra of AaDP and poly (Aa), —poly (Aa) at pH 7.0
--- poly (Aa) at pH 5.7, -·-·- AaDP at pH 7.0.

条件でな random coil 状と思われるが、pH が弱酸性になると特異な CD スペクトルを示し、このとき、何らかの ordered structure をとっているものと思われる。これは温度の上昇に従って崩壊し、もとの AaDP に似た CD スペクトルにもどる。この ordered structure の T_m 値と $\log_{10} [Na^+]$ の関係は Fig 10 のようになり、Na イオン濃度はこの ordered structure の熱的安定性に対して大きな影響を与えないことが判る。以上のことから弱酸性における poly (Aa) の ordered structure は poly (A) における塩基部にプロトネートしたいわゆる “acid form” ではなく、2' 位アミノ基がプロトネートすることにより stack が強化されたことによるものであると考えられる。このよう

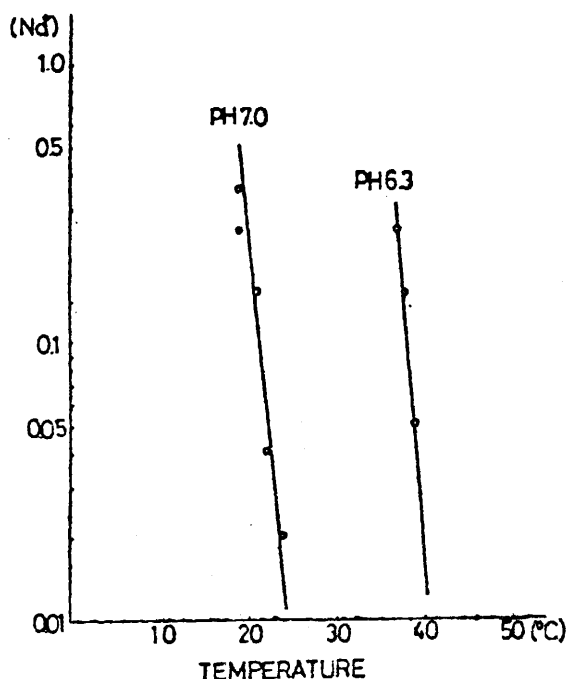


Fig.10. Dependence of T_m of poly (Aa) on Na^+ concentration

な $2' \text{NH}_2$ は電気陰性度が水酸基と大きく異なるために、分子全体が大きく異った構造をとるようになる。この様に $2'$ 位の置換基の電気陰性度はポリヌクレオチドの conformation に重大な影響のあることが判った。

第3章 ポリ (2'-ハロゲン-2'-デオキシプリンヌクレオチド) の合成と性質

第1章、第2章において、大きさが水酸素と類似しているアミノ基を有する poly(Aa) は、self ordered structure 形成において、poly(A) と全く異った性質を示し、より電気陰性度の近いアジド基を有する poly(Az) が、poly(A) と似た性質を示すことが判った。そこで $\text{Br} < \text{Cl} < \text{F}$ の順で電気陰性度が増し、大きさが減少するハロゲン類を $2'$ 位に導入したポリヌクレオチドについて調べた。最近池原らによって、2'-ハロゲン-2'-デオキシアデノシンの合成法が開発されて⁴⁾、このものを AzDP と同様にしてジリン酸化して AxDP をえることができるようになった。又、AxMP を deamination してジリン酸化することにより IxDP を得た。これらを polynucleotide phosphorylase を用いて重合させ、分離精製し、poly(Af), poly(Acl), poly(Abr), poly(If), poly(Icl) をえた。poly(A) アナログの poly(Af), poly(Acl), poly(Abr) の三者は、UV, CD スペクトルともに poly(A) によく似ている。これらの UV スペクトルの λ_{max} における, hypochromicity は、0.15 M Na イオン濃度, pH 7.0, 25°C で Table I のようになり $\text{Af} \geq \text{Acl} > \text{Abr}$ となる。

又、CD スペクトルは Fig. 11のように正負の Cotton 効果の amplitude がやはり $\text{Af} > \text{Acl} > \text{Abr}$ の順で減少する。これらの結果より、置換基の電気陰性度が大きくなり、その大きさが小さくなるほど、塩基間の stacking が強くなることが判った。次に poly(Ax) と poly(U) との complex 形式について

Table I

| | (a) polymer | (b) monomer | hypochromicity(%) |
|-----|------------------|------------------|-------------------|
| A | ϵ 10000 | ϵ 15400 | 35 |
| Af | 9700 | 14300 | 32 |
| Acl | 10500 | 15400 | 32 |
| Abr | 10700 | 15000 | 29 |

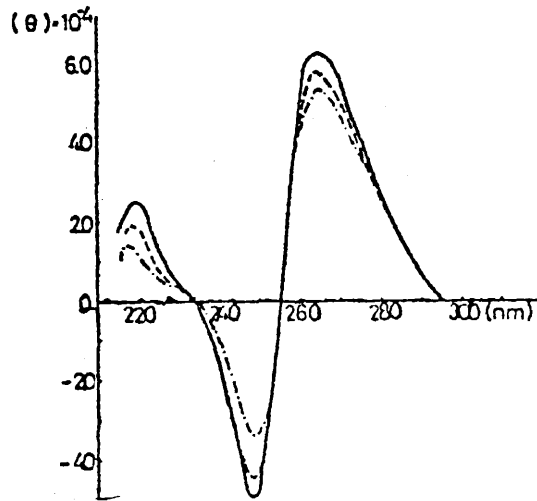


Fig. 11. spectra of poly(Af), poly(A and poly(Abr). poly(Af) —, poly(Acl) ----, poly (Abr) - - - -.

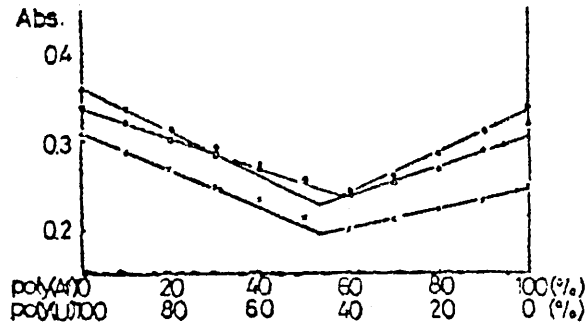


Fig. 12. a Mixing curves of poly(Af) with poly (U) in the presence of 0.04 M Na Cacodylate (pH 7.0) at 25°
At 250 nm x-x-x, 255 nm ●-●-●, 260 nm ○-○-○.

調べた。これら三者と poly(U) とを 0.04 M Na イオン存在下 pH 7.0 で mixing を行い、30分後に UV スペクトルを測定すると 1 : 1 の complex 形成がみとめられた。又、0.15 M Na イオン存在下に mixing して overnight 後に UV スペクトルを測定すると、いずれも poly (Ax) : poly (U) = 1 : 2 complex が形成していることが判った。Fig12は、poly (Af) の例である。これら complex の Tm 値は Table II のようになった。このようにいずれの場合にも complex の熱的安定性は Af-U > Acl-

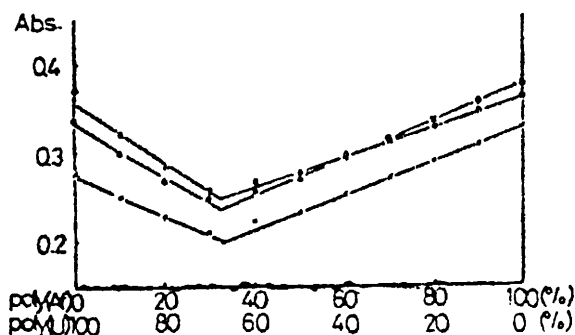


Fig.12-b Mixing curves of poly (Af) with poly (U) measured at 25° in the presence of 0.10 M NaCl and 0.05 M Na Cacodylate (pH 7.0).
At 250 nm x-x-x, 255 nm ●-●-●, 260 nm ○-○-○.

Table II

| | 0.04 M [Na ⁺] 30min. | 0.15 M [Na ⁺] 1day |
|-------|----------------------------------|--------------------------------|
| A-U | 51 (2 → 1) | 62 (3 → 1) |
| Af-U | 49 (2 → 1) | 64 (3 → 1) |
| Acl-U | 46 (2 → 1) | 56 (3 → 1) |
| Abr-U | 45 (2 → 1) | 53 (3 → 1) |

U>Abr-Uとなり、2'置換基の大きさが大きくなり、電気陰性度が減少するほど熱的安定性の減少がみられる。これは、poly (Ax) の conformation がハロゲンが大きくなるに従って complex 形成に不利になる傾向があるためと思われる。

poly (If), poly (Icl) の 0.15 M Na イオン濃度, pH 7.0, 20°C における UV スペクトルは Fig. 13 のようになる。いずれも poly (I) に類似のスペクトルを示す。このとき CD スペクトルは Fig. 14 のようになり、poly (If) では poly (I) とは全く異なった特徴的な CD スペクトルを示す。この条件下、poly (If) は何らかの ordered structure を形成しているものと思われる。これは温度の上昇に従って崩壊し、T_mである27°Cをこえると CD スペクトルは逆転し、poly (I) が random coil 状態にあるときの CD スペクトルと似たパターンを示している。一方 poly (Icl) は同じ条件下で random coil 状態にあると思われる CD スペクトルを示し、poly (Icl) は poly (If) にみられる様な ordered structure は形成しないことがわかる。又、poly (If), poly (Icl) は poly (C) と中性条件下 1 : 1 の complex を形成する。これら complex の熱的安定性を Na イオンを変化させて調べた結果が Fig. 14 (c),(d) である。両者ともに T_m 値と log 10 [Na⁺] の間に直線関係が成立する。poly (If) · poly (C) は poly (I) · poly (C) complex に比べ、いずれの Na イオン濃度においても、T_m 値が 14~20°C 高いが、poly (Icl) · poly (C) では、ほとんど同じである。

前述の poly (Ax) の場合と同様 poly (Ix) においても、2'置換基の電気陰性度が大きくなり、その

の大きさが減少する程, self-ordered structure を形成しやすく, 又, poly (C) との complex の熱的安定性も高いことがわかる。

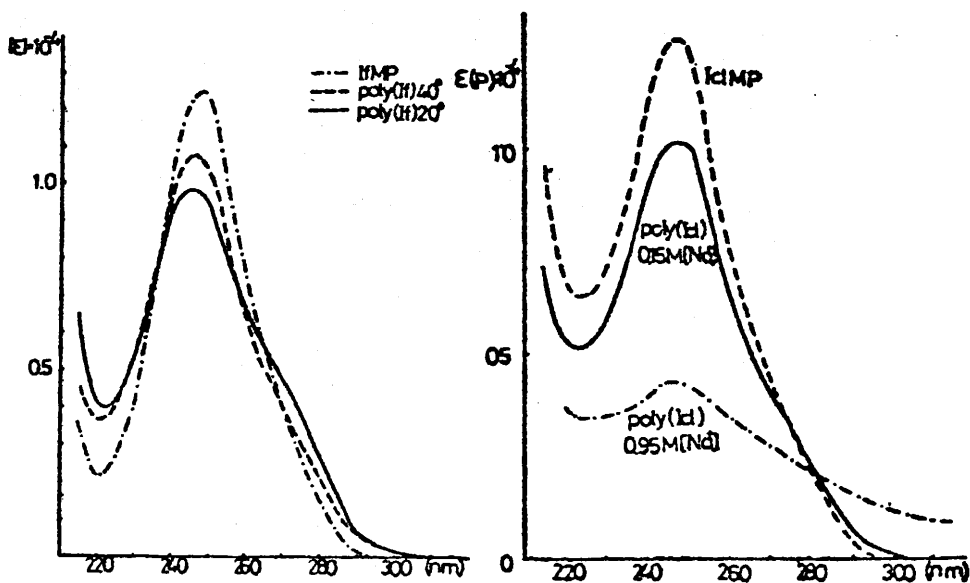


Fig. 13. a UV spectra of poly (I_f)

b UV spectra of poly (I_{cl})

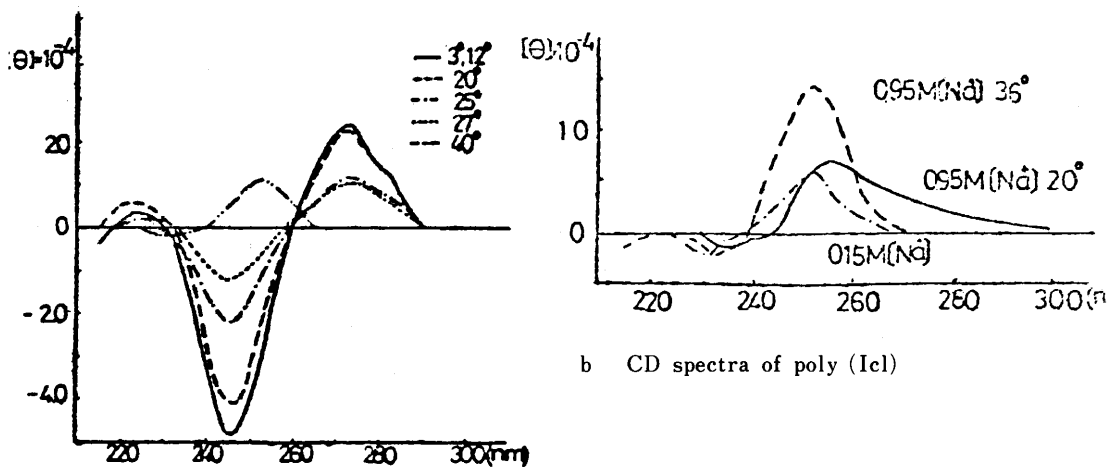


Fig. 14. a CD spectra of poly (I_f)

b CD spectra of poly (I_{cl})

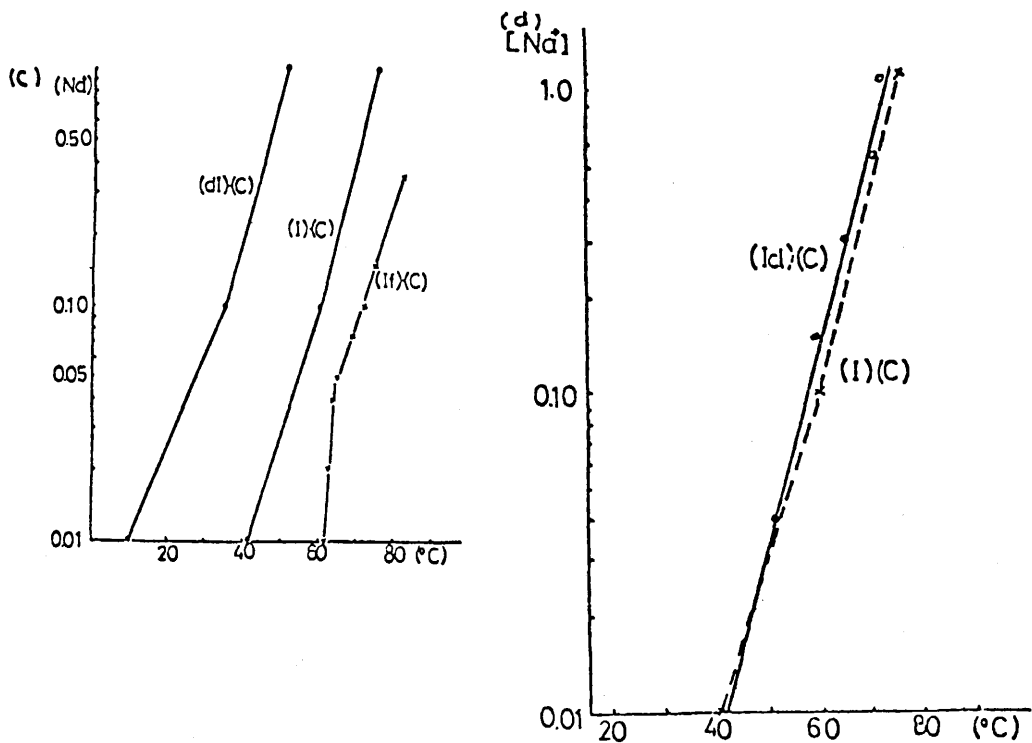


Fig. 14. (c),(d) Relationship between T_m of various double-stranded complexes and Na concentration.

第4章 ポリ2'置換ヌクレオチドの生物活性

1) インターフェロン誘導活性

インターフェロンは細胞がある特定の物質 (interferon inducer) の誘発をうけて作り出す分子量 2~3 万程度の糖タンパク質で細胞にウイルス抵抗性等の生理作用をおこさせる作用がある。二本鎖 RNA は inducer として重要なもので、特に poly(I)·poly(C) complex は高い活性を有することが知られている。今回前章までに合成した poly (Az), poly (Iz), poly (If) poly (Af) について interferon 誘発活性を調べた。Table III, IV に結果を示す。poly (Az) を含む complex はほとんど活性を示さない。しかし、poly (Iz)·poly (C) は human の系で poly (I)·poly (C) とほとんど同じ活性を有している。poly (Af) を含む complex は活性は示すが poly (A) を含む complex より値は小さい。一方 poly (I), poly (C) は、rabbit と human の系で poly (I), poly (C) とほとんど同じ活性を示し mouse 系ではむしろ高い値を示している。この結果は、interferon 誘発活性には 2' 位水酸基が必須であるとした従来の定説には一致せず、interferon 誘発には二本鎖 RNA 分子全体の構造が重要であると思われる。

Table III

Interferon inducing activity of various 2'-azido analogues of (A)n-(U)n and (I)n-(C)n

| System | polynucleotide | interferon titer. | | |
|--|----------------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| | | 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. | 1 $\mu\text{g}/\text{m}$ | 1.10 $\mu\text{g}''\text{ml}$. |
| Primary rabbit kidney cells | | \log_{10} (units/ml) | | |
| "superinduced" with cycloheximide and actinomycin D | (A)n-(U)n | | | 2.9 |
| | (A)n-(rT)n | | | 3.4 |
| | (A)n-(Uz)n | | | < 1.0 |
| | (Az)n-(U)n | | | < 1.0 |
| | (Az)n-(rT)n | | | < 1.0 |
| | (Az)n-(Uz)n | | | < 1.0 |
| | (I)n-(C)n | | | 3.8 |
| | (I)n-(br ⁵ C) | | | 3.9 |
| | (Iz)n-(C)p | | | 3.3 |
| | (Iz)n-(br ⁵ C)n | | | < 1.0 |
| | (I)n-(Cz) | | | < 1.0 |
| Human skin fibroblast cells | (I)n-(C)n | 3.0 | 3.7 | 3.9 |
| "primed" with interferon and | (I)n-(brC)n | 3.5 | 3.9 | 4.2 |
| "superinduced" with cycloheximide | (Iz)n-(C)n | 3.0 | 3.7 | 4.1 |
| and actinomycin D | (Iz)n-(brC)n | < 1.3 | < 1.3 | < 1.3 |
| L-929 cell 'primed' with | (I)n-(C)n | 1.5 | 2.3 | 2.3 |
| interferon | (I)n-(brC)n | 1.5 | 1.8 | 2.0 |
| | (Iz)n-(C)n | < 0.5 | 0.8 | 1.0 |
| | (Iz)n-(brC)n | < 0.5 | < 0.5 | < 0.5 |
| Intact rabbits | (I)n-(C)n | - | 3.8 | 4.7 |
| | (I)n-(brC)n | - | 3.5 | 4.7 |
| | (Iz)n-(C)n | - | < 1.0 | 1.7 |

Table IV

Interferon inducing activity of poly (dIf)-derived complexes in different systems

| Polynucleotide | Interferon titer(log 10 units/ml) obtained at polynucleotide concentration of | | |
|--|---|---------------|----------------|
| | 0.1 μ g/ml. | 1 μ g/ml. | 10 μ g/ml. |
| 1. Primary rabbit kidney cells "superinduced" with cyclohexamide and actinomycin D. | | | |
| poly(I)-poly(C) | 2.5 | 3.8 | 4.2 |
| poly(I)-poly(br ⁵ C) | 2.2 | 2.2 | 3.0 |
| poly(If)-poly(C) | 3.9 | 4.1 | 4.3 |
| poly(I)-poly(br ⁵ C) | 2.7 | 3.0 | 3.5 |
| poly(A)-poly(U) | 1.7 | 3.2 | 3.4 |
| poly(A)-poly(rT) | 3.5 | 4.2 | 3.9 |
| poly(A)-poly(br ⁵ U) | | | < 1.0 |
| poly(Af)-poly(U) | < 1.0 | < 1.0 | < 1.0 |
| poly(Af)-poly(rt) | < 1.0 | < 1.0 | 1.1 |
| poly(Af)-poly(br ⁵ U) | | | < 1.0 |
| 2. Human skin fibroblast cells "primed with interferon and superinduced" with cyclohexamide and Actinomycin D. | | | |
| poly(I)-poly(C) | 4.1 | 4.1 | 4.1 |
| poly(I)-poly(br ⁵ C) | 4.3 | 4.1 | 4.1 |
| poly(If)-poly(C) | 4.1 | 4.2 | 4.3 |
| poly(If)-poly(br ⁵ C) | 3.8 | 3.4 | 3.5 |
| poly(A)-poly(U) | 4.1 | 4.3 | 4.2 |
| poly(A)-poly(rT) | 4.1 | 4.1 | 4.0 |
| poly(A)-poly(br ⁵ U) | | | < 1.0 |
| poly(Af)-poly(U) | 1.9 | 2.9 | 2.9 |
| poly(Af)-poly(rT) | < 1.0 | 2.5 | 2.0 |
| poly(Af)-poly(br ⁵ U) | | | < 1.0 |
| 3. Mouse L-929 cells pretreated with DEAE-dextran | | | |
| poly(I)-poly(C) | 2.11 | 3.65 | 3.68 |
| poly(I)-poly(br ⁵ C) | < 0.5 | 2.29 | 3.66 |
| poly(If)-poly(C) | < 0.5 | < 0.5 | < 0.5 |
| poly(If)-poly(br ⁵ C) | < 0.5 | < 0.5 | < 0.5 |
| 4. Mouse L-929 cells primed with interferon | | | |
| poly(I)-poly(C) | | 1.67 | 3.68 |
| poly(I)-poly(br ⁵ C) | | 1.03 | 1.32 |
| poly(If)-poly(C) | | 2.00 | 2.36 |
| poly(If)-poly(br ⁵ C) | | < 0.5 | < 0.5 |
| 5. Intact rabbits | | | |
| poly(I)-poly(C) | at 1 h. | 2.2 | 2.5 |
| | at 2 h. | 4.5 | 4.7 |
| | at 4 h. | 3.3 | 3.3 |
| | at 7 h. | 2.2 | 1.8 |
| poly(If)-poly(C) | at 1 h. | < 1.0 | 1.7 |
| | at 2 h. | 3.5 | 3.7 |
| | at 4 h. | 3.0 | 2.9 |
| | at 7 h. | 2.2 | 2.2 |

2) リバーストランスクリプターゼに対する活性

RNA 腫瘍ウイルスの gene を合成する reverse transcriptase は、RNA を template にして、oligonucleotide primer に dNTP を付加重合する酵素⁹⁾である。

今回 poly (Az), poly (Af) について、murine leukemia virus の reverse transcriptase に対する活性を調べた。Fig. 15が template primer 非存在下の結果で、poly (Af) は、 $[^3\text{H}]$ -dTTP のと

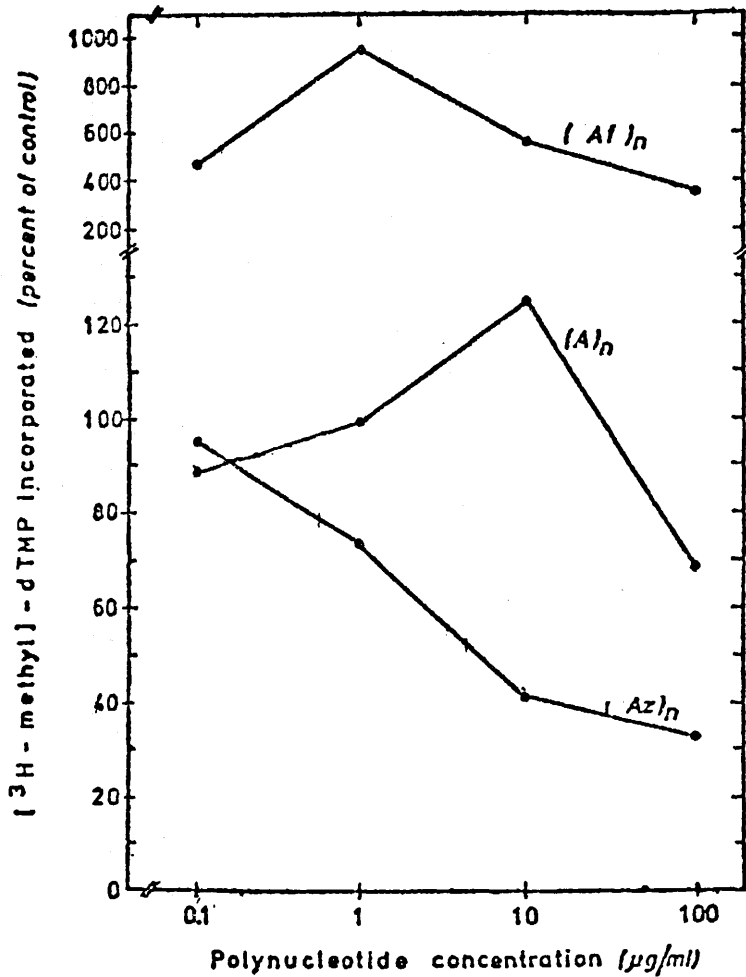


Fig. 15. Effect of poly(Az), poly(Af) on MuLV reverse transcriptase in the absence of poly(A), oligo(dT) as template-primer

りこみを促進している。Fig. 16では、primer 存在下での template 作用を調べているが、poly(Af) は poly(A) より高い template 活性を有しているが poly (Az) は template 活性がみとめられない。Fig. 17では、template primer 存在下での inhibition 効果を調べた結果である。poly(Az) が顕著な阻害作用を有しているのがわかる。このように poly (Af) は reverse transcriptase に高い template 活性を有し、一方、poly(Az) は阻害作用を有している。

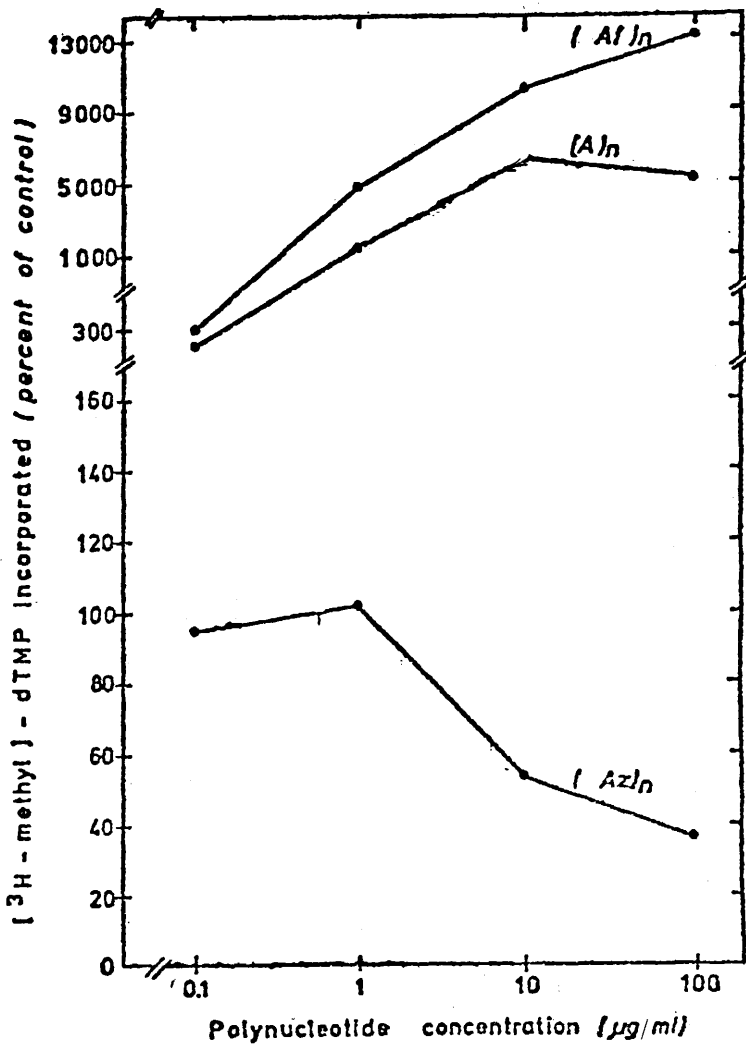


Fig. 16. Effect of poly(Az) and poly (Af) on MuLV reverse transcriptase in the presence of oligo(dT) as primer

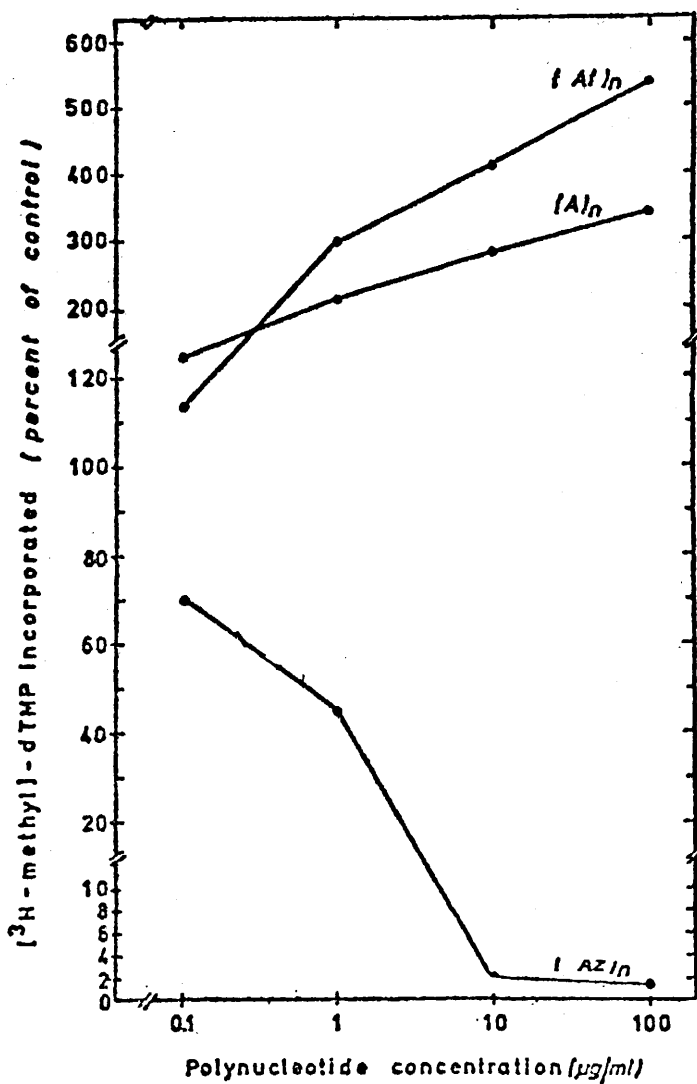


Fig. 17. Effect of poly(Az) and poly(Af) on MuLV reverse transcriptase in the presence of poly(A) oligo(dT) as template-primer

結 論

- 1) アデノシン、イノシンの2'位をアジドで置換した poly(Az), poly(Iz) では, poly(Az) が UV スペクトル, CD スペクトル, 及び poly(U) との complex の熱的安定性が poly(A) とよく似ているのに対して, poly(Iz) は poly(I) における self-ordered structure をとり難く, poly(C) との complex の熱的安定性は, pol(I) · poly(C) と, poly(dI) · poly(C) の中間に位置している。
- 2) 2'位にアミノ基を導入した poly(Aa) は, 弱酸性において, poly(A) では観察されなかった self-ordered structure を形成する。これは, 2'-アミノ基のプロトネーションにより, 塩基

間の stacking が強化されたものと思われる。中性条件では stacking の程度は poly(A) より小さく、プロトネートされない状態での 2'-アミノ基は stacking を妨げる。

- 3) アデノシンの 2' 位にハロゲンを導入した poly(Af), poly(Acl), poly(Abr) では、ハロゲンの電気陰性度の増大、大きさの減少に伴って self-structure の stacking の強化、poly(U) との complex の熱的安定性の増大が観察された。
- 4) イノシンの 2' 位にハロゲンを導入した poly(If), poly(Icl) では、poly(If) が特異な self-ordered structure を形成し、又 poly(C) と非常に安定な complex を形成するのに対し、poly(Icl) では、そのような self-ordered structure は形成せず、poly(C) との complex の安定性は、poly(I) · poly(C) とほとんど同じである。
- 5) poly(Iz) · poly(C), poly(If) · poly(C) では、poly(I) · poly(C) と同じ程度、又はそれ以上の interferon 誘導活性を有している。これは 2' 置換ポリヌクレオチドとしてははじめての例であり、従来の説を訂正した。
又、poly(Af) は poly(A) より高い RNA 腫瘍ウィルスの reverse transcriptase の template 活性をもっていることが判った。

Reference

- 1) M. Ikehara, T. Maruyama, and H. M. Miki. *Tetrahedron Lett.*, 4485 (1976); *Tetrahedron* **34**, 1134 (1978).
- 2) A. Yamazaki, I. Kumashiro and Takenishi. *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 338 (1966).
- 3) J. G. Moffatt and H. G. Khorana. *J. Amer. Chem. Soc.* **83**, 649 (1961).
- 4) M. Grunberg-Manago and S. Ochoa. *Fed. Proc.*, **14**, 221 (1955).
- 5) M. Ikehara and H. Miki. *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 2449 (1978).
- 6) A. K. Field, A. A. T tell, G. P. Lampsom and M. P. Hillman *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **58**, 1004 (1967).
- 7) E. De Clercq and B. Janik. *Biochim. Biophys. Acta*, **324**, 50 (1973); D. L. Steward, W. C. Herdon, Jr. and K. R. Shell. *Biochim. Biophys. Acta* **262**, 227 (1972).
- 8) D. Baltimore. *Nature Nature* **226**, 1209 (1970); H. Temin and S. Mizutani, *ibid.* **226**, 1211 (1970).

研究論文

- 1) Polynucleotides. XL. Synthesis and properties of poly (2'-azido-2'-deoxyadenylic acid).
M. Ikehara, T. Fukui and N. Kakiuchi. *Nucleic Acids Res.*, **3** 2089, (1976).
- 2) polynucleotides. XLVI. Synthesis and properties of poly (2'-amino-2'-deoxyadenylic acid).

- M. Ikehara, T. Fukui and N. Kakiuchi, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 989 (1977).
- 3) Polynucleotides. XLV. Synthesis and properties of poly (2'-azido-2'-deoxyinosinic acid).
- T. Fukui, N. Kakiuchi and M. Ikehara, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 2629 (1977).
- 4) Polynucleotides. L. Synthesis and properties of poly (2'-chloro-2'-deoxyadenylic acid) and poly (2'-brom-2'-deoxyadenylic acid).
- M. Ikehara, T. Fukui and N. Kakiuchi, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 4249 (1977).
- 5) Polynucleotides. LII. Synthesis and properties of poly(2'-fluoro-2'-deoxyadenylic acid).
- M. Ikehara, T. Fukui and N. Kakiuchi, *Nucleic Acids Res.*, **5**, 1877 (1978).
- 6) Interferon inducing activity of a 2'-modified double-stranded complex, poly(2'-azido-2'-deoxyinosinic acid)·poly(cytidylic acid).
- E. DeClercq, T. Fukui, N. Kakiuchi and M. Ikehara, *J. Pharm. Dyn.*, **1**, 62 (1978).
- 7) Polynucleotide. LVI. Synthesis and properties of poly (2'-fluoro-2'-deoxy-inosinic acid).
- Nucleic Acid Res.*, **5**, 3315 (1978).
- M. Ikehara, N. Kakiuchi and T. Fukui
- 8) Interferon induction by a 2'-modified double-helical RNA poly (2'-azido-2'-deoxy deoxyinosinic acid).
- E. DeClercq, P. F. Torrence, B. D. Stoller, J. Hobbs, T. Fukui N. Kakiuchi and M. Ikehara. *Eur. J. Biochem.* **88**, 341 (1978).
- 9) Influence of various 2'-and 2'-substituted polyadenylic acids on murine leukemia virus reverse transcriptase.
- E. DeCercq, T. Fukui N. Kakiuchi M. Ikehara, M. Hattori and W. Pfliegerer. *Cancer Lett.*, in press. **7**, 27 (1979).

参考論文

- 1) Biologic activities of poly(2-azaadenylic acid) and poly(2-azainosinic acid)
E. De Clercq, G-F. Huang, P. F. Torrence, T. Fukui, N. Kakiuchi and M. Ikehara
Nucleic Acid Res. ; 4, 3643 (1977).
- 2) Polynucleotides. XLIV. Synthesis and properties of poly (2-azaadenylic acid) and poly (2 azainosinic acid)
T. Fukui, N. Kakiuchi and M. Ikehara , Biochim. Biophys. Acta., 520, 441 (1978).

論文の審査結果の要旨

当教室に於て開発された新合成法による、2'-N₃, NH₂, F, Cl, Br 置換、2'-デオキシアデノシン及びイノシンより夫々、5'-DP体に通き、これを polyucleotide phosphorylase によって重合することによって、に対応するポリヌクレオチドを合成した。poly(Az), poly(Iz)に於ては前者が各々poly(A)と類似した物性を有するのに反し、後者では特にpoly(Iz)・poly(C)がpoly(I)・poly(C)より低いT_m値を示した。更にpoly(Aa)に於ては、2'位のNH₂基と磷酸の間に特種の安定化要因のあることを発見した。又、poly(Af), poly(Acl), poly(Abr)間に於ては導入原子の大きさ及び電気陰性度の順にポリマー構造の熱的安定性が低下することが判明した。これらの中poly(Iz)・poly(C)及びpoly(If)・poly(C)には強いインターフェロン誘導活性のあることが見出され、従来の定説をくつがえした。以上の結果は博士号請求に価するものとする。