

氏 名	さん どう しん すけ 山 東 信 介
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学位記番号	工 博 第 2065 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 合 成 ・ 生 物 化 学 専 攻
学位論文題目	RATIONAL DESIGN OF DNA - BINDING MOLECULES AND DNA PHOTOCLEAVERS (DNA 認識分子ならびに DNA 光切断分子のデザイン)
論文調査委員	(主 査) 教 授 齋 藤 烈 教 授 北 川 進 教 授 今 中 忠 行

論 文 内 容 の 要 旨

DNA は局所的に様々な高次構造をとることが知られ、生物学的に重要な働きを担っていることが示唆されている。生物学的意義の蓄積につれ、局所高次構造に特異的に結合する小分子に注目が集まっている。このような分子は DNA 構造プロープ、効果的な阻害剤、さらにはアンチセンス剤として様々な応用が期待される。本論文は DNA 局所高次構造を選択的に認識するリード化合物の分子設計について纏めたものであり、序章と7章からなっている。

序論では、分子生物学の発展とともに近年飛躍的に進歩した DNA 塩基配列認識分子の設計に関する最近の研究の背景が纏められている。

第1章では、シングルグアニンバルジ構造を選択的に認識するリード化合物の設計に関して述べられている。グアニンと相補的な水素結合部位を有するインターカレーター 2-アミノナフチリジン誘導体を設計・合成し、シングルグアニンバルジを特異的に認識することに成功した。

第2章では、DNA 特有の光化学的性質を利用し、2-アミノナフチリジン誘導体のバルジ結合様式の解析を行った結果について述べられている。2-アミノナフチリジンがグアニン光1電子酸化能を有することを見いだした。また、2-アミノナフチリジン誘導体による DNA 光切断実験より、2-アミノナフチリジン誘導体がバルジの歪みにインターカレートしていることを明らかにした。

第3章では、ミスマッチ塩基対を選択的に認識するリード化合物の設計に関して述べられている。ナフチリジン2量体がグアニン-グアニンミスマッチ塩基対選択的に非常に効率よく結合することを見いだした。このナフチリジン2量体を金表面上に固定化したミスマッチ検出チップを開発し、表面プラズモン共鳴変化による遺伝子1塩基多型検出系の開発に成功した。併せて、ミスマッチ塩基対認識のための新しい方法論を提案した。

第4章では、ナフチリジン2量体によるミスマッチ塩基対認識機構を化学的、熱力学的に解析した結果について述べられている。この認識がエンタルピーの寄与、すなわち、最終生成複合体の安定性に依存することを見いだした。また、ミスマッチ塩基対の認識には2-アミノナフチリジンによるグアニン塩基の協同的認識が必須であることを明らかとした。

第5章では、ナフチリジン2量体とヒテロメア4重鎖 DNA の相互作用を解析した結果について述べられている。ナフチリジン2量体がグアニン4塩基対よりなる DNA 4重鎖構造に強く結合すること、さらに、このナフチリジン2量体の結合により、ヒテロメア配列の安定4重鎖構造がほどかれ、2本鎖ヘアピン構造へと変化することを見いだした。また、ナフチリジン固定化チップを用いたテロメア鎖検出システムの開発に成功した。

第6章では、DNA を配列特異的に切断する光駆動型人工制限酵素の設計に関して述べられている。光ヴォルフ転位によりケテンを発生するジベンゾイルジアゾメタンを5'末端に持つ複合体を開発し、1本鎖 DNA を配列選択的に光切断することに成功した。

第7章では、この複合体によるグアニン選択的 DNA 切断の反応機構を解析した結果について述べられている。複合体と

DNA との光反応として、グアニン塩基 N2 位でのアシル化によるクロスリンク、ならびに、N7 位でのアシル化による DNA 切断の機構を提案した。

論文審査の結果の要旨

生体内に存在する DNA は安定なアンチパラレル 2 本鎖構造を形成している。しかし、近年の研究により DNA は局所的には様々な特異構造を保持しており、この構造が複雑な生命システムの一部を担っていることが明らかになりつつある。これらの特異構造を選択的に認識する機能性分子は、DNA 構造のプロープとして、また、次世代の遺伝子診断薬としても大きな期待が持たれる。本論文は、DNA バルジ及びミスマッチ構造を高精度で認識する分子の設計に初めて成功した結果を纏めたもので、得られた結果は以下の通りである。

1. 2-アミノナフチリジン誘導体が効率よくグアニンバルジ DNA に結合することを見いだした。バルジ塩基と相補的な水素結合を持つインターカレーターがシングルバルジ構造認識に有用であることを示した。
2. 2-アミノナフチリジンを 2 個連結したナフチリジン 2 量体がグアニン-グアニンミスマッチ塩基対に効率よく結合することを見いだした。これを金表面上に固定化し、ミスマッチ塩基対検出のためのセンサーチップを開発した。また、このセンサーチップがヒト遺伝子の 1 塩基多型 (SNP) 検出に応用可能であることを示した。
3. ナフチリジン 2 量体がヒトテロメア 4 重鎖構造に選択的に結合することを見いだした。また、この結合により安定なヒトテロメア 4 重鎖構造がヘアピン 2 本鎖構造へとほどかれることを明らかにした。
4. 光により求電子剤を発生し、DNA をグアニン塩基選択的に切断する「光駆動型人工制限酵素」の開発に成功した。

以上、本論文はバルジ構造ならびにミスマッチ構造を高精度で認識する機能性分子の設計に成功した結果を纏めたもので学術上、実際上寄与するところが少なくない。よって本論文は博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成13年2月19日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。