

氏名	ふく い けいじろう 福 井 啓 二 郎
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学位記番号	工 博 第 1600 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 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 分 子 工 学 専 攻
学位論文題目	Photoinduced Electron Transfer in Acridine-Intercalated DNA (アクリジンをインターカレートした DNA における光誘起電子移動 に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 邊 時 雄 教 授 森 島 績 教 授 田 中 一 義

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、DNA ヘリックス中での光誘起電子移動反応に関して、位置選択的な色素導入法を確立し、電子移動反応における芳香環のスタッキングの有効性を論じた結果をまとめたもので、緒論、本論3編6章および結論から構成されている。

緒論では、本論文の背景となる芳香環のスタッキングを利用した電子移動速度の増大と、DNA を用いた従来の電子移動系の問題点を要約し、電子移動反応における定量的な検討のためには、色素分子を DNA 中の任意の位置に導入するための方法論の確立が不可欠であることを指摘している。

第1編は、1本鎖 DNA の位置選択的な化学的修飾法について、既存の修飾法と分子設計の差を比較しつつ論じたものである。

第1章では、DNA インターカレーターであるアクリジン誘導体を、リンカーを介して合成 DNA 中に導入する方法について論じている。この色素を熱的な揺らぎの大きい DNA の末端ではなく、中間部位に導入するために、DNA の一部を光学的に純粋な核酸塩基の擬似体で置き換え、そこからアクリジン色素を結合させており、このようにして得られた修飾 DNA が安定な2本鎖を形成しうることを明らかにしている。

第2章では、上記の修飾 DNA において、アクリジンのインターカレーションの位置選択性や強度がリンカー長に大きく依存すると考えられることから、リンカー長を変化させた修飾 DNA の作製、さらに合成収率の改善に関して検討している。この目的のため、DNA 合成機に組み込めるよう置換基の保護、活性化を施した、リンカー長の異なる DNA 合成のための試薬を作製し、それらが合成 DNA 中に極めて高い効率で導入されることを見いだしている。

第2編は、導入したアクリジンが、位置選択的かつ強固に2本鎖 DNA 中にインターカレートする条件について、系統的に探索した結果を述べている。

第1章では、修飾 DNA とその相補鎖において、アクリジンを最も強力にインターカレートさせる条件

について、リンカー長及び塩基配列の観点から述べている。二本鎖の熱力学的安定性の比較から、リンカー長が短すぎても長すぎても、アクリジンは DNA にインターカレートすることができず、DNA 全体の安定性を損なうことを明らかにしている。すなわちリンカー長及び塩基配列には最適条件が存在し、リンカー長はテトラメチレン、相補鎖にはアデノシンが存在するときにアクリジンが最も強固にインターカレートし、DNA 全体の構造は最も安定化されると結論している。

第 2 章では、DNA 全体、及びアクリジン近傍の立体的構造を論じている。2 次元 NMR 法を用いた解析により、アクリジンの反応部位に存在するアデノシンはヘリックスの外に追いやられ、かわりにアクリジン色素が位置選択的に導入されていること、また DNA 全体においてもヘリックス構造が保たれていることを直接的に明らかにしている。

第 3 編は、励起状態アクリジンと DNA の塩基との相互作用について論じており、特に従来、クロモフォアの位置の不均一性から困難であった、DNA 中における電子移動速度の距離依存性について詳細に述べている。

第 1 章では、DNA 中にインターカレートしたアクリジンの励起状態特性について詳述することにより、励起状態における DNA 構造について論じている。たとえ基底状態において安定な構造を保っていたとしても、励起状態において、これと同様であるとは限らないが、過渡吸収スペクトルおよび時間分解偏光解消測定から、励起状態においてもアクリジンがインターカレートした DNA のヘリックス構造が剛直に保たれていることを明らかにしている。

第 2 章では、アクリジンとドナーであるグアニンの距離が系統的に異なる DNA を作製することによって、DNA 中での光誘起電子移動反応を測定している。電子移動速度はアクリジンとグアニンの距離が増大するにしたがって減少し、電子移動の距離依存性の目安である β 値がタンパク質をマトリックスとした電子移動系の値とほぼ等しいことから、DNA 中の芳香環スタックが電子移動反応において有効な媒体であることに言及している。

結論では、DNA 中への色素の位置選択的な導入について詳細な研究を行うことにより、DNA 中での電子移動速度および距離依存性を測定することが初めて可能となったことを指摘している。さらに、この方法論の適用は、ドナーが複数スタッキングしたときや、近傍の電荷の有無など、従来の分子系では測定が不可能であった効果の検証にもひろく適用可能であると述べている。

論文審査の結果の要旨

DNA はその内部に 1 次元的に組織化された芳香環のスタッキングを有しており、電子移動反応におけるドナー及びアクセプターの近傍に存在する芳香環の役割を検証するにあたって、非常に有用なモデルとなる。本論文は、DNA ヘリックス中での光誘起電子移動系反応について、色素の位置選択的導入法の確立、及び電子移動反応における芳香環のスタッキングの有効性について研究した成果についてまとめたものであり、得られた主な成果は次の通りである。

1. DNA の化学的合成法であるホスホロアミダイト法を応用し、一本鎖 DNA 中の任意の位置にインターカレータであるアクリジン色素を導入する方法を開発した。これにより、従来の方法では解決できな

かった、ドナー、アクセプター間の距離の不均一性を解消している。この方法は光学異性体を生成せず、収率も極めて良いことから、修飾 DNA の合成法としても有用である。

2. これらの修飾 DNA は、相補鎖と安定な 2 本鎖を形成することが可能であり、その安定性はアクリジンと DNA 間のリンカー長や DNA の塩基配列様式に大きく依存することを見いだしている。これらの DNA のうち最も安定なものについて、2 次元 NMR 法を用いて構造決定を行い、アクリジンが二本鎖 DNA の所要部位に選択的にインターカレートしていることを明らかにし、さらにこのときアクリジンの基底状態および一重励起状態の両方において、まわりの環境が剛直な構造をとっていることも見いだしている。

3. グアニンがアクリジンに対してドナーとして働くことを利用して、ドナー、アクセプター間の距離を系統的に変化させた電子移動系を作製し、DNA 中での光誘起電子移動反応と距離の関係について詳細に考察することによって、芳香環のスタッキングが電子移動速度を著しく増加させると結論している。

以上、本論文は電子移動反応における芳香環のスタッキングがもたらす効果について、明確に分子設計を行った修飾 DNA 系を用いて知見を得たものであり、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 9 年 1 月 27 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。