

学位審査報告書

(ふりがな) 氏名	さんのへ ゆうた 三戸 祐太
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 26 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	理学研究科 化学専攻
(学位論文題目)	<p>Chemical approaches toward G-quadruplex structure from design and control its structure to biological relevance and application for nanostructures (グアニン四重鎖構造に対する化学的アプローチ、構造の設計・制御から生物学的関連性・ナノ構造まで)</p>
論文調査委員	(主査) 杉山 弘 教授 三木 邦夫 教授 藤井 紀子 教授

理学研究科

(続紙 1)

京都大学	博士 (理 学)	氏名	三戸 祐太
論文題目	Chemical approaches toward G-quadruplex structure from design and control its structure to biological relevance and application for nanostructures (グアニン四重鎖構造に対する化学的アプローチ、構造の設計・制御から生物学的関連性・ナノ構造まで)		
(論文内容の要旨) DNA は二重らせん構造以外にも様々な構造をとることが知られている。特にグアニン塩基を豊富に含む配列では四本の DNA 鎖が水素結合で結ばれたグアニン四重鎖構造をとることが知られている。このグアニン四重鎖構造は様々な分野で研究が行われている。本学位論文では、グアニン四重鎖構造の(1)-(2)構造の制御、(3)-(5)生物学的関連性、(6)-(7)DNA ナノ構造について、化学的アプローチにより分子レベルで検討を加え、詳細に述べている。 (1) グリコシド結合角によるグアニン四重鎖構造トポロジーの設計 グリコシド結合とループを構成する塩基数を考慮して新規グアニン四重鎖構造の設計を行った。その結果、グアニン四重鎖構造のトポロジーは複数の因子が絡んで決定されており、グリコシド結合により、それら候補を絞り込めることが分かった。 (2) 末端を伸長したオリゴヌクレオチドを用いたグアニン四重鎖構造の方向性に関する実験 末端を伸長したオリゴヌクレオチドを用いてグアニン四重鎖構造の方向性について調べたところ、末端が逆方向を向いている時の方が安定であり、グアニン四重鎖構造同士が相互作用してコンパクトなパッキング構造をしていることが示唆された。 (3) キラルな楔形分子によるテロメラーゼ活性の阻害 キラルヘリセンの四重鎖構造への結合評価とテロメラーゼ活性の阻害評価を行った。興味深い事に、キラルヘリセンはエナンチオ選択的に四重鎖構造に結合し、さらに単体よりも二つのグアニン四重鎖構造の方が結合しやすいことが分かった。 (4) グアニン四重鎖構造と小分子リガンドの相互作用を測定するための単分子基盤の開発 光ピンセット法を用いてピリドスタチンとグアニン四重鎖構造の結合について実験を行った。実験の結果、結合定数を測定するにあたり、従来行われていた濃度を変えた測定を必要としないことが明らかになった。 (5) グアニン四重鎖構造を用いた安定なラリアット構造の形成 ヒトテロメア領域では(2)-(3)で示したグアニン四重鎖構造による高次構造以外に T-loop 構造の存在も提唱されている。そこでモデル構造としてループ構造を持つ四重鎖構造を設計し、その安定性について評価を行った。 (6) DNA ナノ構造上におけるグアニン四重鎖構造の構造変化ダイナミクスの可視化 グアニン四重鎖構造の形成・崩壊の様子を高速原子間力顕微鏡を用いて観測した。DNA オリガミ法により、グアニン四重鎖構造の形成・崩壊で構造が変化する DNA ナノ構造を設計し、グアニン四重鎖構造の形成をリアルタイムで観測する事に成功した。 (7) グアニン四重鎖構造を用いた一本鎖カテナン合成 (5)で示したラリアット構造を用いて、グアニン四重鎖構造を利用した新規カテナン合成法の開発を行った。水素結合という弱い結合を用いて DNA カテナンを合成したのはこれが初めての報告である。			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

染色体末端に存在するテロメア領域は TTAGGG の繰り返し配列をもっており、細胞分裂の度に短縮される。そのため細胞分裂の回数を計るカウンターの役割を果たし、無軌道な分裂を防ぐ役割を果たしている。80%のがん細胞ではテロメラーゼを発現することにより、テロメアの短縮を防ぎ、不死化を獲得している。正常細胞では一部の細胞を除いてテロメラーゼの発現量はすくないため、テロメラーゼは抗がん剤の新しいターゲットとして注目されている。2000年に東京大学の瀬戸、新家らによって放線菌が産生するテロメスタチンが強いテロメラーゼ阻害活性を示すことが明らかにさせている。驚くべきことに、その作用点はテロメラーゼ自身ではなくテロメア DNA がつくる四重鎖構造であることが示された。そのためヒトテロメア配列の形成する四重鎖構造について研究が精力的に行われている。2006年に申請者のグループの他、米国の2グループがその構造が Type-1、type-2 と呼ばれる特異な 3 + 1 のハイブリッド構造であることを明らかにした。

本論文で申請者はこのハイブリッドグアニン四重鎖構造について有機化学的に様々な角度から検討を行った。まずグアニン四重鎖構造の安定性について検討し、グリコシド結合とループを構成する塩基数を考慮して新規グアニン四重鎖構造の設計することに成功した。さらにグアニン四重鎖構造の方向性について調べ、末端が逆方向を向いている時の方が安定であり、グアニン四重鎖構造同士が相互作用してコンパクトなパッキング構造をしていることを示した。さらにキラルヘリセンがエナンチオ選択的に2つのグアニン四重鎖構造の間に結合しやすいことを示した。さらにハイブリッド型のグアニン四重鎖構造を形成することによって非常に長いループ構造でも安定なラリアット構造の形成できることを示した。またこの構造モチーフを用いたラリアット構造の形成についても検討を行っている。さらにグアニン四重鎖構造のカリウムイオによって形成、解裂する様子を DNA オリガミ法に作成した DNA ナノ構造を用いて高速原子間力顕微鏡を用いて観測することも世界に先駆けて成功した。

以上、本論文はグアニン四重鎖構造について、化学的アプローチ、構造の設計・制御から生物学的関連性・ナノ構造まで検討した画期的な結果を報告したものであり、分子生物学、構造生物学、物性物理学などの研究分野にも波及する新たな重要な知見である。またこれらの分野に生物有機化学が大きく貢献できることを示す学術的な結果でもある。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成24年1月17日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。

要旨公開可能日： 年 月 日以降