

学位論文の要約

題目 DNA Nanotechnology and Atomic Level Understanding for a Complex of DNA and a DNA Minor Groove Binder

(DNA ナノテクノロジーと DNA および DNA マイナーグリーブバインダーから成る複合体の原子レベルでの理解)

氏名 安倍 克彦

1. 序論

あらゆる疾患において、原因究明や新規治療法の確立を目指した多くの研究が世界中で行われており、生体ナノテクノロジーの分野はそれら研究を支える技術の一翼を担っている。DNA origami や DNA tensegrity triangle はそのような生体ナノテクノロジーで用いられる構造体の一つである。これまでこれら構造体の性質を確認する実験からマウスを用いたドラッグデリバリーシステムの開発に関する実験まで幅広い実験が行われている。また X 線結晶構造解析は生体分子やその結合分子に関する原子レベルでの知見を与えてくれる。DNA 副溝結合分子であるピロールイミダゾールポリアミド (PIP) はその DNA に対する配列特異性を生かし、中分子製薬の分野で注目をされている。この分子の原子レベルでの結合様式の解明や構造に関する研究は今後の薬剤応用などを行う上で重要である。

主論文では DNA ナノ構造体を用いた分子機能や配置の制御に関する実験について示している。加えて、PIP と DNA の複合体の X 線結晶構造解析やそれを補完する実験を通して DNA への結合により起きる構造変化についてまとめている。これら研究から得られた知見は将来的な細胞・生体導入において基礎となり、既存分子の発展・新規分子の開発・それら分子の新規導入方法を促進させると期待される。

2. Construction of an optically controllable CRISPR-Cas9 system using a DNA origami nanostructure

近年、DNA ナノテクノロジーの分野は急速に発展しており、様々な応用研究が行われている。その中でも DNA origami はワンポット反応で規則正しい構造を形成できることから注目を集めている。この性質を利用することで、生体関連物質を目的の場所に配置することができるため、DNA origami は細胞への輸送体の基盤として広く利用されている。加えて、生体分子の光制御の分野はその高い波長選択性と透過性により発展を遂げてきた。この章

では、これらの分野の融合に向けた最初のステップとして、非細胞系での DNA origami 内のタンパク質の放出を光によって制御する研究を紹介している。今回の研究成果を基に、将来的には細胞導入や光制御などが可能となり、関連分野の更なる発展が期待される。

3. Creation of crystals containing metal-bipyridine chelate based on the tensegrity triangle

DNA tensegrity triangle は自己組織化により三次元の結晶格子を形成することができる、DNA ナノ構造体である。この構造体は規則的な格子を形成するため、様々なゲスト分子をその格子空間中に導入することができる。しかし、DNA tensegrity triangle にゲスト分子を導入した例は少なく、結晶構造解析からゲスト分子の存在を証明した例はない。本章では、金属ビピリジン錯体をゲスト分子としてトライアングルに導入し、X 線結晶構造解析によりその存在を確認する実験について記している。また、配置できる金属イオンの多様性を実証するために、 Ni^{2+} や Fe^{2+} などの異なる金属イオンを導入して結晶化を行った。分解能は低いものの、予想通りの位置に金属由来の異常分散効果の信号を観測することに成功した。

4. X-ray crystal structure of a cyclic-PIP-DNA complex in the reverse binding orientation

遺伝子制御に使用される DNA 結合分子を正確に設計・応用するためには詳細な結合様式の解明は必須である。PIP は、ピロール・イミダゾール・その他の合成ユニットの配列を変えることで、二本鎖 DNA に対して配列特異的に結合する DNA 副溝結合分子の一種である。本章では、これまで報告がなかった、DNA 副溝内で逆配向を取る環状 PIP (cPIP) と DNA の複合体の X 線結晶構造を 1.5Å の分解能で報告している。加えて、報告されていた順配向 cPIP-DNA 複合体の結晶構造との比較を行い、類似点・相違点をまとめている。さらに、配向を制御する要素について考察し、cPIP の配向選択性に関する議論を行っている。

5. Structural studies of a complex of a CAG/CTG repeat sequence-specific binding molecule and A-A-mismatch-containing DNA

トリプレットリピート病は、3 塩基からなるリピート配列の異常伸長によって引き起こされ、特に CAG/CTG リピート配列の伸長はハンチントン病などを引き起こす。これらの疾患の根本的な治療法は確立されておらず、PIP はその配列特異性により、新薬候補としての研究が進んでいる。CAG/CTG リピート配列に結合する PIP を標的 DNA 配列に導入し、リピート病の原因となる遺伝子発現を抑制するマウスを用いた実験が既に報告されている。本章では、A-A ミスマッチ塩基対を含む二本鎖 DNA と CAG/CTG 配列に特異的に結合する PIP の複合体について X 線結晶構造解析を行い、その結果をまとめている。さらに、この構造の妥当性や特性をコンピューターモデリングや量子化学計算、ゲル電気泳動によって確認していった。また、DNA オリガミと AFM を用いた直接観察によりこの PIP が CAG/CTG リピート DNA 鎖に対し引き起こす、ダイナミックな構造変化を捉えることに成功した。