

氏 名	ふじ 藤 本 けん 健 ぞう 造
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 1634 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 合 成 ・ 生 物 化 学 専 攻
学位論文題目	Photoreactions of 5-Halouracil-Containing DNA as a Probe for DNA Structures. (5-ハロウラシル含有 DNA の光化学反応と DNA 構造解析への応用)
論文調査委員	(主 査) 教 授 齊 藤 烈 教 授 吉 田 潤 一 教 授 山 本 雅 英

論 文 内 容 の 要 旨

DNA の構造は配列により局所的にかなり特異な構造をとっていることが指摘され、これらの局所的な DNA 構造が巧妙な遺伝子のスイッチングと深く関わっていることがわかっている。この巧妙なメカニズムを探るためには DNA 局所構造の検出法の開発が必要である。プロモウラシルやヨードウラシルなどの 5-ハロウラシルは、その化学構造の相同性ゆえに、チミンの代わりに DNA 鎖中に誤って取り込まれることが知られている。また、5-ハロウラシルは、光励起によって水素引き抜き能を有するウラシルラジカルを生成することが知られており、蛋白とのクロスリンク反応や DNA 鎖の切断反応を引き起こす。本論文はこの 5-ハロウラシルを含む DNA の光反応を分子レベルで探究するとともに、DNA 局所構造の解析法としての可能性をまとめたものであり、序論と 5 章からなっている。

序論では、遺伝情報のスイッチングと DNA の局所構造との関係及び既存の DNA 局所構造解析法に関する最近の研究の背景がまとめられている。また、プロモウラシルやヨードウラシルの光化学に関する最近の研究が述べられている。

第 1 章では、プロモウラシルを含むオリゴヌクレオチドの光反応性、及びその光活性化機構を解析した結果について述べられている。プロモウラシルを含む 6 量体の蛍光スペクトル及び ^{18}O を含む水中における 1' 位酸化物のイオンスプレーマスを測定し、DNA 中におけるプロモウラシルの光活性化機構を提唱している。また、プロモウラシルを含む長鎖 DNA を酵素的に調製し、その光反応を行ったところ、5'-A^{Br}U^{Br}U-3' 配列で優先的にウラシルラジカルが生成することを見い出した。

第 2 章では、ヨードウラシルを含む 6 量体の光反応において DNA リボース 2' 位の酸化物の単離に成功し、その構造決定を行った。エリスロース骨格を有するリボース 2' 位酸化物由来の DNA 切断反応を解析し、分子内逆アルドール反応を利用した 2' 酸化の定量法を開発した。

第 3 章では、DNA リボース 1' 位の酸化物の生成に関して、従来全く考察されていなかった新たな生成

過程の発見について述べられている。2' ヨードデオキシウリジン及びそれを含む 6 量体の光反応の解析を行い、1' 位酸化物であるリボノラクトンが生成することを見い出した。次に、リボノラクトン生成機構解明の為に 1' 位を重水素でラベルして 2'-ヨードデオキシウリジンの合成を行った。さらに、それを用いた光反応の解析により、1' 位水素の立体特異的な 1,2-ヒドリドシフトによるリボノラクトンの生成を実証した。

第 4 章では、DNA リボース 2' 位の酸化に関して、ウラシルラジカルが引き抜く水素を同定した結果が述べられている。5-ハロウラシルを含む DNA の光反応における DNA リボース 2' の酸化が、立体選択的な水素引き抜きによるものであることを 2' 位を重水素ラベル化した基質を用いることにより明らかにした。2' 位水素引き抜き反応における速度論的同位効果 (k_H/k_D) が 7.2 という大きな値をもつことを示し、これに基づいて DNA リボース 2' 位の酸化の反応機構を考察した。

第 5 章では、典型的な右巻き B 型 DNA 中と A 型に近い DNA-RNA ハイブリッド中におけるウラシルラジカル光反応性について比較検討した結果が述べられている。B 型 DNA 中では生成する 2' 位酸化物が DNA-RNA ハイブリッド中では抑制され、むしろ 1' 位水素引き抜き反応が優先的に起こることを見い出し、本光反応の DNA 局所構造解析への応用の可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

プロモウラシルやヨードウラシルなどのハロウラシルは、DNA 中にチミンの代わりに取り込まれ、光照射によりウラシルラジカルを生成し、蛋白とのクロスリンクや DNA 鎖自身の切断を引き起こすことが知られている。これらハロウラシル含有 DNA の光化学を分子レベルで理解することは、光遺伝子治療並びに遺伝子の 3 次元構造解析のためにも極めて重要である。本論文はハロウラシルを含む DNA の光反応を有機化学のレベルで研究した結果とその光反応性を利用した DNA の局所構造解析への応用をまとめたもので、得られた成果は以下の通りである。

1. DNA 中におけるプロモウラシルの新しい光活性化の機構を提唱した。
2. 酵素的にプロモウラシルを組み込んだ長鎖 DNA を調製し、それを用いて光による主要な DNA 損傷の塩基配列を同定した。
3. ヨードウラシルを含む DNA の光切断反応を解析し、分子内レトロアルドール反応を利用した DNA リボース 2' 酸化の定量法を開発した。
4. 2'-ヨードデオキシウリジン及びそれを含む 6 量体オリゴマーの光反応解析を行い、DNA リボース上での立体特異的な 1,2-ヒドリドシフトを初めて見い出した。
5. ハロウラシルを含む DNA の光反応の高次構造依存性を見い出し、DNA 局所構造解析への応用の可能性を示した。

以上要するに、本論文はハロウラシルを含む DNA の光反応の解析を行い、反応の機構を明らかにし、DNA 局所構造解析への応用を計ったもので学術上、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 9 年 2 月 24 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。