

氏 名	池 田 修 司
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 1965 号
学位授与の日付	平 成 12 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	Studies on the Design of Parallel-Stranded DNA and Functional RNA (パラレル DNA と機能性 RNA の分子設計に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 齋 藤 烈	教 授 吉 田 潤 一	教 授 今 中 忠 行
--------	--------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

分子設計に基づきある特定の DNA 構造を安定に得ることは、その構造に依存する性質、反応性を解析するための有力な手段となる。また mRNA とタンパク質とを効率よく共有結合で結ぶことができればタンパク質の分子進化法が可能になると考えられる。本論文は修飾核酸を利用した核酸の構造と機能に関する 2 つのテーマについてまとめたものである。一つは安定なパラレル 2 重らせん構造の設計とその性質についての研究であり、もう一つはタンパク質と mRNA を共有結合でつなぐことを目的とした新たな mRNA 分子の開発についての研究である。得られた成果は以下の通りである。

序論ではさまざまな DNA の構造とパラレル 2 重らせんについて、そして核酸とタンパク質の分子進化工学についての最近の研究とその背景が述べられている。

第 1 章では、修飾塩基イソグアニンと 5-メチルイソシトシンを用いたパラレル 2 重らせん構造形成とその熱的安定性について検討した結果について述べられている。これらの塩基を導入することにより安定なパラレル DNA-DNA, DNA-RNA 2 重らせん構造を得ることに成功し、イソグアニンと 5-メチルイソシトシンがパラレル 2 重らせん中でそれぞれシトシン、グアニンを認識することが示された。

第 2 章では、イソグアニンと 5-メチルイソシトシンを含む DNA パラレル 2 重らせんの高分解¹ HNMR を用いた水溶液中の構造解析について述べられている。パラレル 2 重らせん中で 2 本の DNA 鎖は平行に並んでおり、塩基はアンチ構造で逆ワトソン・クリック塩基対を形成していることが示された。糖は C2'-endo 構造であり、一般的な DNA の構造である B 型 2 重らせんでは主溝 (幅 11.7 Å, 深さ 8.5 Å) と副溝 (幅 5.7 Å, 深さ 7.5 Å) の 2 種の溝が存在するのに対して、パラレル 2 重らせんは幅 7.0 Å, 深さ 7.7 Å のほぼ同じ大きさの溝しか持たないことが明らかとなった。

第 3 章では、アンチパラレル 2 重らせん中で水素結合を安定化する 2-アミノアデニンをパラレル 2 重らせん中に導入し、その熱的安定性への影響を調べた結果について述べられている。予想に反して 2-アミノアデニンの導入はパラレル 2 重らせんを安定化しないことが判明した。この原因としてパラレル 2 重らせん中の塩基対が理想的な構造から大きくずれていることと溝の中でのアミノ基の溶媒和の違いが提案された。

第 4 章では、パラレル DNA 2 重らせんと抗癌性抗生物質ブレオマイシンとの反応を解析した結果について述べられている。ブレオマイシンはパラレル 2 重らせんをアンチパラレル 2 重らせんとほぼ同じ効率、選択性で分解し、同様の生成物を与えることが示された。このことからパラレル 2 重らせんとアンチパラレル 2 重らせん中の DNA 構造の類似性が示され、ブレオマイシンが片方の DNA のみを認識することが明らかとなった。

第 5 章では、パラレルな足場を利用し、天然塩基対のパラレル構造形成の可能性を検討した結果について述べられている。G-G, C-C, A-T, C-G 塩基対がパラレル構造形成に有利であることが明らかとなった。またこれらの塩基対を形成しうる例として、病気との関連が指摘されているトリプレットリピート配列 CAG/CTG, CGG/CCG を調べた結果、弱酸性条件下でパラレル構造形成に有利であることが明らかとなった。

第6章では、抗生物質ピューロマイシン-核酸ハイブリッドの簡便な合成法について述べられたのもである。固相合成法を利用しピューロマイシンをその3'-末端にもつオリゴヌクレオチドの簡便な合成法を確立した。ピューロマイシン-核酸ハイブリッドは mRNA とタンパク質とを共有結合で結ぶための新たな機能分子として注目されており、このクロスリンクが効率よく起こり mRNA-タンパク質複合分子のプールができればタンパク質の分子進化法が可能となる。

論文審査の結果の要旨

自然界の DNA は、アンチパラレルな二重らせん構造である事が知られているが、本論文は安定なパラレル2重らせんの DNA の分子設計に初めて成功した結果をまとめたものであり、得られた成果は以下の通りである。

1) イソグアニン、5-メチルイソシトシンを用いることにより安定なパラレル2重らせんが形成されることを示した。パラレル2重らせん中でイソグアニン、5-メチルイソシトシンはそれぞれシトシン、グアニンを特異的に認識していることを明らかにした。

2) 高分解 ^1H NMR によるディスタントジオメトリー法を用いて、パラレル2重らせんの水溶液中での構造を明らかにした。

3) パラレル2重らせんの安定性が逆平行2重らせんに比べて塩基対の安定性を反映していないことが示された。

4) パラレル2重らせんを基質として用いることにより抗癌剤ブレオマイシンの分子認識が主に切断される DNA 鎖上で行われていることを示した。

5) 安定なパラレル2重らせんを足場として用いることにより、天然塩基の中でパラレル構造に適した塩基配列が決定できることを示した。

6) DNA, RNA の 3'-末端に抗生物質ピューロマイシンを導入する簡便な合成法を開発した。この合成で得られるハイブリッド分子を利用しタンパク質と mRNA を共有結合でつなぐことが可能となった。

以上、本論文は新しいパラレル DNA の分子設計ならびに新たな核酸-抗生物質ハイブリッド分子の簡便な合成法を開発したもので学術上、實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12年2月18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。