

氏 名	今 久 保 慶 一
	いま く ぼ けい いち
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 130 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 43 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 原 子 核 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Luminescence of Nucleosides, Nucleotides, and DNA at 77°K
	(77° Kにおけるヌクレオサイズ, ヌクレオタイズ, 及びデオキシリ ボ核酸の発光)

(主 査)
論文調査委員 教 授 四手井綱彦 教 授 武 藤 二 郎 教 授 寺 本 英

論 文 内 容 の 要 旨

主論文は DNA 分子の励起状態と分子内におけるエネルギー移動機構を明らかにすることを目的としたものである。まず、核酸を構成している5種類の塩基の誘導体であるヌクレオシドとヌクレオチドの励起状態を明らかにするため、紫外線励起による蛍光と燐光とを調べた。この実験で得られた資料を基として、DNA 分子の励起一重項状態 (S_1^*) と三重項状態 (T_1) とが、どの塩基からの寄与によるものであるかを検討した。

実験条件は、 $10^{-4} \sim 10^{-3} \text{ mol/l}$ の試料を、1:1 容量比の燐酸バッファーとエチレングリコールの混合溶媒に溶解させ、77°K に凍結させた状態で、265 $m\mu$ の紫外線で励起した。溶液の pH は中性である。塩基誘導体についての燐光測定の結果は次のように要約できる。

(1) プリン及びピリミジン誘導体はともに T_1 — 状態からの燐光が観測されたが、その平均寿命は前者で約1.2~2.5秒であり、後者では約0.5秒であった。燐光強度は前者の方が後者より1~2桁も強い。プリン誘導体の燐光は従来報告されていたものとよく一致するが、ピリジン誘導体の中性溶液における燐光は従来観測されていない。(2)燐光のスペクトルから5種類の塩基の T_1 — 状態のエネルギーを求めると、シトシン (C), グアニン (G), アデニン (A), ウラシル (U), チミン (T) の順になり、チミンの T_1 が最もひくい。

DNA 分子の燐光強度はプリン誘導体の燐光強度に比べて弱く、そのスペクトルの形は TMP (チミジン・モノホスフェート) の pH7 のスペクトルと比較的よく類似し、従来考えられていたアルカリ性溶液での T—塩基のスペクトルとは必ずしも一致しない。更に DNA 分子の燐光平均寿命の波長依存性を調べると、TMP の燐光ピーク付近の波長 (445 $m\mu$) では大部分が T—塩基からの寄与によるものと見ることができるが、プリン誘導体の燐光ピークの波長 (405 $m\mu$) では T—塩基からの寄与よりも、A—塩基からの寄与が上まわると見られる。T と A の燐光の量子収率が 1:10 以下であることを考慮すると、DNA 分子の T_1 状態は95%以上が T—塩基からの寄与であり、残りが A—塩基からのものであると推論できる。

次に熱変性によって一本鎖にほどこいた denatured DNA の燐光スペクトルが、二本鎖の native DNA のスペクトルと略一致することを見出している。これら燐光に関する観測結果を総合すると、Rahn 等によって提唱されている次の仮説は支持できないと結論する。「DNA 分子の T_1 状態は、 $\text{pH} > 10$ の溶液中で観測される T-誘導体のそれとよく一致する。したがって、この分子内では、水素結合を介して陽子が $T \rightarrow A$ と移動することによって励起エネルギーの移動が行なわれる。」

蛍光の観測結果からは、プリン誘導体とピリミジン誘導体との間に著しい相違点は見出されていない。どの誘導体も蛍光スペクトルのピークは、 $305 \sim 330 m\mu$ の領域にある。一方 DNA 分子の蛍光スペクトルは $360 m\mu$ 付近にピークをもち、分子を構成している塩基の誘導体のいずれの蛍光スペクトルとも一致せず、長波長側にずれている。また、denatured DNA の蛍光スペクトルは、native DNA のそれと殆んど差異が見られない。これらの結果を次のように解釈している。「DNA 分子内では、それを構成する塩基はその分子面が互に平行であり、しもかなり近接して重なり合いの状態にあることが知られている。したがって、DNA 分子の同一鎖の隣接している塩基間に π 電子間相互作用が存在し、ある $*S_1$ 状態での塩基とそれに隣接する基底状態の塩基とが結合し、いわゆる excited dimer を形成する」。このような解釈は、二個の塩基が化学結合しているディヌクレオチドの蛍光スペクトルが、それを構成する塩基の蛍光スペクトルより長波長側にずれていることによっても支持される（参考論文 4）。ディヌクレオチドの塩基分子面の重なり合いは、施光分散の測定から知られている。

以上の観測結果と推論とより、DNA 分子内における紫外線による励起エネルギーは、その二本鎖間の水素結合を経由して移動するのではなく、同一鎖の塩基間をチミン塩基に向かって大半が移動すると結論している。

参考論文 1 は、アントラセン・テトラセン混晶の放射線熱発光における濃度効果を調べたものである。参考論文 2 は、ヌクレオチドおよび DNA の燐蛍光に関する研究の予報で、主論文の前提となるものである。参考論文 3 および 4 では、いずれも、ディヌクレオチドの燐光並びに蛍光を取り扱ったもので、主論文と密接な関係をもつ研究である。

論文審査の結果の要旨

主論文は DNA 分子の紫外線による励起状態と、分子内での励起エネルギーの移動機構とを明らかにすることを目的としている。この問題は量子生物学の基本的資料を提出するものであり、また最近の問題である紫外線の致死効果、とくに、ピリミジンダイマーの生成とも関連した重要な課題である。

申請者は、まず、DNA 分子を構成している塩基の誘導体であるヌクレオシドとヌクレオチドの燐光を、そのスペクトルと平均寿命とについて系統的に調べた。その結果ピリミジン誘導体の燐光を中性溶液ではじめて見出した。従来の報告によると、この種誘導体の燐光は、強アルカリ溶液中以外では観測されず、ESR 測定でも三重項状態の存在は見られていなかった。この新しい観測によって、DNA の燐光状態に関する見方は、改めねばならないことになった。

DNA の燐光スペクトルを、塩基誘導体の燐光スペクトル（と比べると、上に述べた中性溶液で観測されたチミン誘導体のスペクトル）が最もよく類似することが確認された。また燐光寿命の波長依存性の測

定から、DNA 分子の紫外線照射によって誘起される三重項状態の95%以上はチミン塩基からの寄与であると結論している。

さらに、熱変性によってつくった denatured DNA の燐光スペクトルと、native DNA の燐光スペクトルとを比べると、そのスペクトルの形および寿命等について、殆んど差異が見られない。上述の DNA 分子の三重項について得た見解と合せ考えると、従来 Rahn 達によって提唱されていた、「DNA 分子内では、水素結合を介して一個の陽子がT（チミン）→A（アデニン）と移動し、その三重項状態は強アルカリ性溶液でのT-誘導体のそれと一致する」、という仮説は成立しないと指摘している。

DNA 分子の蛍光スペクトルの観測から得られた主要な結果は、各塩基誘導体の蛍光スペクトルに比べて著しく長波長側にずれていることである。このことより、DNA 分子の同一鎖の中で隣接している塩基間に、 π 電子相互作用があり、excited dimer を作るものとしている。この結論は、DNA 分子内で塩基はその分子面が互に平行で、かなり近接して重なり合った構造をもつことより見て、妥当な結論である。

以上の結果に基づいて、DNA 分子内におけるエネルギー移動について、次のような興味ある考え方を提唱している。「DNA 分子内における励起エネルギー移動は、二本鎖間の水素結合を経由するのではなく、同一鎖の塩基間を移動する。」以上のように、この論文は DNA 分子内におけるエネルギー移動の機構について、一つの解答を与え、また DNA 分子並びに塩基誘導体のエネルギー準位に新しい知見を加えたもので、放射線生物物理学並びに量子生物学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。