

氏 名	どう の ちか ら 堂 野 主 税
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2169 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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	Mechanistic Studies on Long Range Charge Transport through DNA (DNA を媒体とする長距離電荷移動の機構に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 齋 藤 烈 教 授 青 山 安 宏 教 授 森 島 績

論 文 内 容 の 要 旨

近年, DNA 二重らせんを経る電荷移動は遺伝子の損傷や修復等の生物学的観点ならびに, バイオナノ材料として特に注目されている。本論文は, まず DNA 内の電荷移動を解析する系の構築について述べ, 電荷移動機構ならびにその制御について研究した結果を纏めたものであり, 序章と 8 章からなっている。

序論では, 電荷移動媒体としての DNA 研究の背景と意義, また分子生物学の発展に伴い, 近年飛躍的に進歩した DNA 内電荷移動研究の成果とその応用について纏められている。

第 1 章では, DNA の一電子酸化における有効な光増感剤の開発について述べられている。*p*-シアノベンソフェノン誘導体と DNA, dG との反応を詳細に解析し, *p*-シアノベンソフェノン誘導体が DNA に対する優れた 1 電子酸化剤であることを明らかにした。

第 2 章では, 新規電子受容性核酸塩基の開発とそれ含む DNA の合成について述べられている。シアノベンソフェノン置換ウリジンをを用いると B 型二重らせん構造を維持しながら, 電子受容性分子を DNA 中に任意の位置に導入でき, DNA 内電荷移動の解析に有用な系の構築に成功した。

第 3 章では, DNA を経る正孔(ホール)移動反応を系統的に解析した結果が纏められている。シアノベンソフェノン置換ウリジンを含む DNA を用いて, DNA を経るホール移動の距離, 配列依存性を調べ, 長距離ホール移動がグアニンの多段階ホッピング機構により進行していることを明らかにした。さらに, DNA 内のホール移動に伴う遠隔グアニン酸化生成物の同定に初めて成功し, 2-アミノイミダソロンであることを見いだした。

第 4 章では, DNA を経るホール移動の酸化電位依存性について述べられている。5 塩基はなれた 2 つの連続グアニン配列 (GGG) 間のホール移動効率を, 2 つの GGG 間に介在する塩基の酸化電位を変化させながら追跡した結果, 酸化電位が DNA を経るホール移動を制御する重要な因子であることを初めて明らかにした。

第 5 章では, C・G*G 型三本鎖中で起こる特異的なホールトラップについて述べられている。C・G*G 型三本鎖内でのホール移動を経て, ホールは三本鎖上のグアニンで特異的にトラップされることを明らかにした。分子軌道計算からこのホールトラップの選択性が, 熱力学的と速度論的, 双方に起因することを示した。

第 6 章では, シクロプロパンの開環反応に基づいてホールをトラップする核酸塩基の設計とその反応の解析に関して述べられている。新規に開発した N²-シクロプロピルグアノシンを導入した DNA を用いることで, DNA 内を移動するホールの 9 割以上を速度論的にトラップすることに成功した。

第 7 章では, 長距離ホール移動におけるアデニンの寄与について解析した結果が述べられている。アデニン上に生成したホールをトラップする様, 設計された N⁶-シクロプロピルアデノシン (CPA) を導入した DNA を用いて, ホール移動を解析した結果, O⁶PA 上でのホールトラップが起こることを示した。すなわちアデニンの様な高い酸化電位を有する塩基上においてもホールは生成しており, ホッピング機構に直接寄与している可能性を強く提示した。

第8章では、DNA-タンパク複合体中におけるホール移動についての解析結果が述べられている。制限酵素 *Bam*HI と DNA との複合体中でのホール移動は、*Bam*HI の認識配列を越えてはほとんど進行できないことを示した。*Bam*HI-DNA の認識部位内では、正電荷を帯びたアルギニン残基が直接的な水素結合に関与しており、このために電子不足したグアニンは酸化を受けず、ホール移動のキャリアーとして機能しないことが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

DNA を経る電荷移動は、生物化学的な観点ならびにバイオナノ材料として注目されている。本論文は、DNA を経る電荷移動の機構ならびにその制御について研究した結果を纏めたもので、得られた主な成果は以下の通りである。

1. DNA の1電子酸化における優れた光増感剤として、*p*-シアノベンソフェノン誘導体を開発した。この知見に基づき設計したシアノベンソフェノン置換ウリジンを含む DNA を用いて、DNA を経る電荷移動の解析に有用な系の構築に成功した。

2. DNA を経る電荷移動の配列、距離、構造および酸化電位依存性を系統的に追求し、その機構の詳細を分子レベルで解明することに成功した。すなわち、DNA 内に発生したホールの長距離移動は、酸化電位の低いグアニン塩基をキャリアーとする多段階ホッピング機構により進行することを実証した。

3. DNA 内のホールを定量的に捕捉することができる新規シクロプロピル置換グアニン塩基の開発に成功した。また、この結果を応用したシクロプロピル置換アデニン塩基を含む DNA を用いることにより、グアニンのみならずアデニンも電荷移動のキャリアーとして機能している可能性を提示した。

4. DNA 内の電荷移動を、配列特異的に認識する制限酵素 *Bam*HI を用いて制御できることを初めて見出した。

以上、本論文は DNA を経る電荷移動の機構を分子レベルでの解明し、その制御に成功した結果を纏めたもので、その成果は学術上、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14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。