（ 続紙 1 ）

京都大学	博士（エネルギー科学）	氏名	阪本　知樹
論文題目	Evaluation of the structure, dynamics, and thermodynamic properties of nucleic acids forming triplex structures in intracellular environments （細胞内環境における三重鎖構造を形成する核酸の構造、ダイナミクス、および熱力学的特性の評価）		

（論文内容の要旨）

本論文では三重鎖構造に関して、ヒト生細胞を観測対象とするインセル NMR 法による構造・ダイナミクスの解析と、試験管内における NMR 法を用いた緩和測定による熱力学的な解析を行うことで、その本質に迫る研究を行ったもので、6 章からなっている。

第 1 章は序論で、DNA は通常二重鎖構造を形成するが、DNA の一部は三重鎖構造を形成し、これにより特定の生命現象が引き起こされることが分かってきたという最近の状況が述べられている。また、生物の細胞内は分子が込み合った状況にあり、このためタンパク質や核酸等の生体高分子の細胞内における挙動(立体構造、ダイナミクス及び相互作用)は、希薄溶液である試験管内とは異なる可能性があることが説明されている。その上で、生細胞を試料管に詰めてそのまま NMR スペクトルを測定するインセル NMR 法について説明し、この手法が生細胞内における生体高分子の挙動を解析するのに優れた方法論であることが述べられている。

第 2 章では、ある種の DNA 配列がヒト生細胞中において三重鎖構造を形成することを、インセル NMR 法によって初めて直接的に証明したことが述べられている。DNA の配列に依存して、平行型と反平行型の三重鎖構造がヒト生細胞中で形成されることこと述べられている。

第 3 章では、試験管内における NMR 法を用いた緩和解析によって、三重鎖構造における塩基対の開閉のダイナミクスに関する情報を、塩基対レベルの分解能で獲得できたことが述べられている。また、各塩基対の開閉に関する熱力学量も決定され、三重鎖構造の安定性に関して、塩基対レベルの分解能での定量的な議論が可能となったことが述べられている。さらに細胞内環境を模倣する各種のクラウダー分子の存在下での解析から、三重鎖構造の生細胞内における挙動に関する物理化学的な理解が得られたことが述べられている。

第 4 章では、インセル NMR 法を、別の非標準型の DNA 構造である四重鎖構造の解析に適用した結果が述べられている。ある種の DNA 配列がヒト生細胞中において四重鎖構造を形成することを、直接的に証明したことが述べられている。また、四重鎖構造の骨格である G:G 塩基対に関し、生細胞内では試験管内によりも、塩基対が高頻度で開くことを見出したことが述べられている。即ち塩基対の開閉のダイナミクスが、生細胞中と試験管内とでは異なることを見出したことが述べられている。

第 5 章では、カリウムイオン濃度と pH が三重鎖構造の安定性にもたらす効果を試験管内で解析し、生細胞内における三重鎖構造の挙動の推定に資する情報が得られたことが述べられている。また、三重鎖構造における 3 本目の鎖が RNA の場合、DNA の場合と比べて熱安定性が高いことを見出し、その原因が RNA の 2’水酸基が関与した水素結合であると考えられることが述べられている。

第 6 章は結論で、非標準型 DNA 構造である三重鎖構造と四重鎖構造がヒト生細胞中で存在することを、インセル NMR 法によって初めて直接的に証明したことが述べられている。また、ヒト生細胞内と試験管内とでは、四重鎖構造における G:G 塩基対の開閉のダイナミクスに違いがあることを見出したことが述べられている。さらに、試験管内における三重鎖核酸構造に関する緩和解析によって、三重鎖構造の安定性に関して塩基対レベルの分解能での定量的な議論が可能となり、三重鎖構造の生細胞内における挙動に関する物理化学的な理解が得られたことが述べられている。このような理解は、三重鎖構造の形成が関与した疾患に対する治療法を開発する上で有益であると結ばれている。

（続紙 2 ）

（論文審査の結果の要旨）

DNA は通常二重鎖構造を形成するが、DNA の一部は三重鎖構造を形成し、これにより特定の生命現象が引き起こされることが近年分かってきた。三重鎖構造が関与した生命現象についての理解を深めることは、菌体等を用いてバイオマスからエネルギーと有用物質を獲得する際にも役立つ。本論文は三重鎖構造に関して、ヒト生細胞を試料管に詰めてそのまま NMR スペクトルを測定するインセル NMR 法による構造・ダイナミクスの解析と、試験管内における NMR 法を用いた緩和測定による熱力学的な解析を行った結果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. ある種の DNA 配列がヒト生細胞中において三重鎖構造を形成することを､インセル NMR 法を用いることで初めて直接的に証明することに成功した。また、DNA の配列に依存して、平行型と反平行型の 2 種類の三重鎖構造がヒト生細胞中で形成されることも見出した。

2. 試験管内における NMR 法を用いた緩和測定によって、三重鎖構造における塩基対の開閉のダイナミクスに関する情報を、塩基対レベルの分解能で獲得することに成功した。また、各塩基対の開閉に関する熱力学量を決定し、三重鎖構造の安定性に関して、塩基対レベルの分解能での定量的な議論を行うことが可能となった。さらに細胞内環境を模倣する各種のクラウダー分子の存在下での解析から、三重鎖構造の生細胞内における挙動に関する物理化学的な理解を得ることができた。

3. ある種の DNA 配列がヒト生細胞中において四重鎖構造を形成することを、インセル NMR 法によって直接的に証明した。また、四重鎖構造の骨格である G:G 塩基対に関し、生細胞内では試験管内よりも、塩基対が高頻度に開くことを見出した。即ち塩基対の開閉のダイナミクスが、生細胞内と試験管内とでは異なることを初めて示した。

4. カリウムイオン濃度と pH が三重鎖構造の安定性にもたらす効果を試験管内で解析し、生細胞中における三重鎖構造の挙動の推定に資する情報を得た。また、三重鎖構造における 3 本目の鎖が RNA の場合、DNA の場合に比べて熱安定性が高いことを見出し、その原因が RNA の有する 2'水酸基が関与した水素結合であると考えられることを示した。

以上本論文では、生細胞内において三重鎖構造が形成されることを直接的に証明すると共に、その挙動の理解に資する物理化学的な情報を獲得することに成功した。得られた知見は、菌体等を用いたバイオマスの利活用の際にも活用できる可能性がある。

よって、本論文は博士（エネルギー科学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 7 年 2 月 21 日に実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日：2025 年 6 月 24 日以降