

氏 名	山 田 篤 子
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 475 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 7 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 化 学 専 攻
学位論文題目	核磁気緩和法による核酸（ポリリボアデニル酸） と Mn^{2+} との相互作用に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 波多野博行 教授 雑賀亜幌 教授 広田 襄

論 文 内 容 の 要 旨

核酸と金属イオンとの相互作用を詳細に調べるために、核酸のモデル物質としてポリアデニル酸を、また、二価の金属イオンとして Mn^{2+} を用い、この系に核磁気緩和法を適用し、錯体の構造を考察し錯体形成反応の速度定数を求めた。

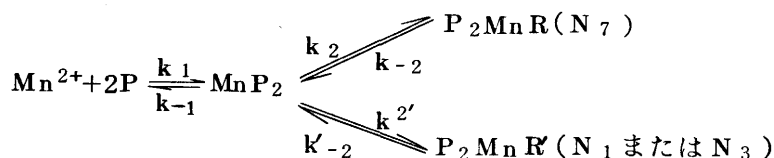
ポリアデニル酸と Mn^{2+} との系の中性重水溶液中の縦緩和時間 (T_1) と横緩和時間 (T_2) の測定には、パルスフーリエ変換核磁気共鳴法を用いた。また、 ^{31}P の T_2 は線幅から求めた。測定温度領域は $10\sim 90^\circ C$ で、測定周波数は 1H に対しては 100 MHz を、 ^{31}P に対しては 40.48 MHz を用いた。

ポリアデニル酸の ^{31}P , H_8 , H_2 , H_1' の T_1 は、すでに測定温度領域内で最小値をとる。この最小値を用いて各核と Mn^{2+} との見かけの距離を求めた。また、 ^{31}P の T_1 と T_2 との差から、超微細結合定数 A は 10^6 Hz と見積ることができた。このことは Mn^{2+} の電子スピンの ^{31}P 核上にしみ込んでおり、 Mn^{2+} がりん酸基と直接結合していることを意味している。また、電子スピンのこのしみ込みは H_8 核と H_2 核とについても観測され Mn^{2+} がアデニン環とも直接結合していることがわかった。

一方、ポリアデニル酸と Mn^{2+} との溶液の溶媒である水の縦緩和時間の測定に Proton Relaxation Enhancement 法を適用した結果、加えた Mn^{2+} はすべて2個のりん酸基に結合していることがわかった。このことを考慮に入れて Mn^{2+} と ^{31}P との核間距離が $3.3\text{ \AA}$ であると決定した。

これらの実験結果によりえられた各原子の核と Mn^{2+} との距離からアデニル酸と Mn^{2+} との錯体の構造を推定した。すなわち加えた Mn^{2+} はすべて2個のりん酸基と結合しており、その一部はアデニン環とも結合していることがわかった。また、 Mn^{2+} とりん酸基とアデニン環と同時に結合した錯体は、少なくとも、2種以上あることがわかった。このアデニン環上の結合部位として、 N_7 と N_3 (あるいは N_1) を考え、りん酸基と Mn^{2+} とアデニン環との錯体がただ2種類のみ存在すると仮定すると、各錯体の存在率は 0.39 ± 0.13 (N_7) および 0.13 ± 0.05 (N_1 あるいは N_3) と見積ることができる。

このように、3種の Mn^{2+} 錯体を仮定すると、錯体形成の過程は次のように考えられる。



ここに、P はりん酸基を、R はアデニン環を表わす。

本研究でえられた Mn^{2+} の錯体の寿命を表わす τ_m の値と、3種の Mn^{2+} 錯体の存在率および、ポリアデニル酸と Mn^{2+} との結合定数を用いて上述の過程の速度論的パラメータを決定し、また、解離過程の活性化エネルギーを求めた。

以上のように Mn^{2+} は核酸の塩基部分とりん酸基部分とに同時に結合することが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

生体内における核酸を含む種々の反応に二価の金属イオン、特に Mg^{2+} と Mn^{2+} が重要な役割を果たしていることが知られている。しかし、アデノシン三りん酸やアデノシン一りん酸などのモノヌクレオチドは別として、ポリヌクレオチドと金属イオンとの相互作用の詳細は明らかにされていない。

本論文は核酸と、金属イオンとの相互作用を詳細に研究するために核酸のモデル物質としてポリアデニル酸を、また、二価の金属イオンとして Mn^{2+} を用い、この系に核磁気緩和法を適用し、ポリアデニル酸と Mn^{2+} との錯体の構造を考察し、錯体形成反応の速度定数を求めたものである。

ポリアデニル酸と Mn^{2+} との系の重水溶液中の縦緩和時間 (T_1) と横緩和時間 (T_2) の測定にはパルスフーリエ変換核磁気共鳴法を用いている。測定温度領域は $10^\circ \sim 90^\circ\text{C}$ で、測定周波数は ^1H に対しては 100MHz を、 ^{31}P に対しては 40.48MHz を用いている。

T_1 は Mn^{2+} の電子スピンとの双極子相互作用で記述され、 Mn^{2+} と問題にしている核との距離 r と分子の回転相関時間 τ_r との関数で表わされる。 T_1 と τ_r が核スピンのラーモア角度に等しい時に最小値をとる。従ってこの τ_r と T_1 の最小値とから τ_r を求めている。一方、 T_2 は Mn^{2+} との双極子—双極子相互作用と超微細相互作用で記述される。実測の横緩和時間 (T_{2P}) には T_2 の他に Mn^{2+} 錯体の寿命 τ_m の寄与が含まれている。 T_2 と τ_m は逆の温度依存性を示すので、 T_{2P} の温度依存性を調べると、いずれの寄与が大きいかを見積ることができる。実測の縦緩和時間 (T_{1P}) は単に T_1 で表わされる。

このようにして、各緩和時間の測定により Mn^{2+} が直接りん酸基と結合していることを明らかにしている。

一方、溶媒の水の縦緩和時間の測定には Proton Relaxation Enhancement 法を適用して Mn^{2+} と ^{31}P との距離を決定している。

これらのことを考慮に入れて、ポリアデニル酸と Mn^{2+} との錯体は少なくとも2種以上あるということとを明らかにし、3種の Mn^{2+} 錯体の存在を仮定して錯体形成の反応スキームを提出している。

これに基づいて、先に求めた τ_m の値と、3種の Mn^{2+} 錯体の存在率、および、 Mn^{2+} とポリアデニル酸との結合定数を用いて、このスキームに対する反応速度定数を決定している。

Mn^{2+} は本研究によって核酸の塩基部分とりん酸基部分に同時に結合することが明らかにされている。この実験の条件の下ではポリアデニル酸は一重鎖で塩基がスタッキングしたヘリックス構造をとっている。従って、このような結合はポリアデニル酸に歪みを生じさせうる。このようなことは実際に生体内の核酸に関しても当然起っていることが期待されるが、 Mn^{2+} の果している役割を解明するためには更に Mn^{2+} の塩基特異性等を詳細に検討する必要がある。

本研究はポリヌクレオチドと Mn^{2+} との相互作用を定量的に取扱うことを初めて試みたものであり、この解析法をポリアデニル酸以外のポリヌクレオチドと Mn^{2+} との相互作用に対して適用すれば、溶液内における核酸と金属との相互作用と結合錯体の構造を解明することができるであろう。

要するに本論文に示されている成果は生物物理化学の分野に著しい貢献をなしたものとみることができ、参考論文に示された成果とも併せて、申請者が広い学識とすぐれた研究能力を有していることがわかる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。