

氏 名	まつもと あつし 松 本 淳
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2074 号
学位授与の日付	平 成 11 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	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Dynamic structure of nucleic acid molecules by normal analysis (基準振動解析による核酸分子の動的構造)

(主査)

論文調査委員 教授 郷 信 広 教授 三 木 邦 夫 助教授 木 寺 詔 紀

論 文 内 容 の 要 旨

核酸やタンパク質の構造や運動の研究をする場合、コンピュータシミュレーションは強力な道具である。原子レベルで高分子の動的構造を研究する方法には分子動力学法 (MD) やモンテカルロ法 (MC) があるが、基準振動解析法 (NMA) もその一つである。申請者は、この方法を用いて、第一部で、酵母フェニルアラニン転写RNA、そして第二部で、二重らせんDNAの動的構造の解析を行った。

第一部

転写RNAは、DNAに貯えられた遺伝情報をアミノ酸配列に置き換えるという重要な働きを持った分子である。申請者は、まず、この分子全体の動的構造に着目し、つぎに局所的な動的構造に着目して解析を行った。

この分子に対して解析を行った結果、まず申請者が注目したのは、この分子が、非常に低い値の基準振動数を持っていることである。最低振動数は 0.58cm^{-1} であって、同程度の原子数をもつタンパク質分子のhuman lysozyme (原子数は、tRNAが2510に対し、lysozymeは2013) の最低振動数 3.72cm^{-1} と比較すれば、かなり低い値である。このことから、この分子がタンパク質分子に比較して、かなりflexibleであることが分かった。申請者は、分子を連続体とみなした場合に、その材質の硬さに関係する量を計算した結果、タンパク質分子 (BPTI) のそれとは、大差がないことを示した。このことは、この分子の柔らかさが、分子の細長い形態に由来することを示している。

次に、申請者は、よりミクロな視点からこの分子を解析した。この分子中には、他の塩基とスタッキング相互作用をしていない塩基がごく小数あることが分かっているが、それらの塩基周辺の糖—リン酸骨格 (主鎖) 上にある二面角の熱揺らぎは、他の部分よりも、かなり大きかった。このことを、より詳しく調べるために、2つの二面角間の揺らぎの相関係数を求めた。隣り合う2つの糖にはさまれた主鎖領域を1ブロックとして考えると、同じブロック内にある二面角間の揺らぎの相関は、分子全体で平均すると、概して大きい対し、隣り合うブロックにある二面角間のそれは、概して小さかった。ところが、スタッキング相互作用をしない塩基の周辺では、隣り合うブロック内にある二面角間でも、相関は大きかった。この結果は、主鎖上の二面角の熱揺らぎは塩基間のスタッキング相互作用により抑えられていることを示している。

このような塩基間のスタッキング相互作用の重要性を考慮し、配列上隣り合う2つの塩基間の相対位置を記述する変数 (shift, slide, rise, roll, tilt and twist) の熱揺らぎの計算手法を新たに考案し、その計算を行った。その結果、アクセプターシステム領域とアンチコドンシステム領域では、他のシステム領域よりも大きなshiftとslideの熱揺らぎが見られた。分子の両端にあるこれら二つの領域では、大きな曲げやねじれの運動が見られたことから、これらの運動にはshiftとslideの揺らぎが重要であることを示している。また、messenger RNAと相補的な塩基対を形成するアンチコドンの3塩基に注目すると、塩基間の相対運動の熱揺らぎは、アンチコドンに隣接するアンチコドンシステム領域内にある塩基間の熱揺らぎと同程度であった。アンチコドン領域は一本鎖領域であるため、かなり塩基の運動は自由になっていると予想されるが、その領域

内の塩基間の相対運動の熱揺らぎが、二重らせん領域であるアンチコドンシステム内のそれと同程度であることは、意外である。これは、この領域の糖-リン酸骨格上の二面角の熱揺らぎが、リン酸と塩基との特殊なスタッキング相互作用により、抑えられているためと思われる。アンチコドンの塩基間の熱揺らぎが小さいことは、mRNAと相補的塩基対の形成に有利だろう。

第二部

スーパーコイルリングや染色体内での折りたたみといった、二重らせんDNAについての興味深い問題のいくつかは、DNAが長いチェーンであることに由来する。このような問題を理論的に扱おうとする場合、その長さゆえに、様々な仮定、あるいはモデリングが必要となる。DNA二重らせんを弾性体の棒とみなすことも、その一つである。この仮定が、よい近似であることを示すことが、この研究の目的である。

申請者は、DNAの運動の解析を行うにあたり、各原子の運動に注目するのではなく、DNAのらせん軸の運動に注目した。このために、まず静止状態のDNAに対して直線状のらせん軸を定義した。そして、基準振動解析により得られる原子の揺らぎベクトルを用いて、振動状態のDNAのらせん軸を求めた。

長さと配列の異なる4つのDNAに対して基準振動解析を行った結果、どのDNAにおいても、接近した振動数を持ったモードの対が得られた。これらのモードでは、らせん軸が曲げ運動をしており、しかも、対をなしているモードどうしでは、曲げの振動方向は、ほぼ直交していた。基準振動解析では、分子の振動は各モードの重ね合わせであらわされるので、この2つの結果、すなわち、振動数が接近していることと曲げの方向が直交していることは、DNAはどの方向にも等方的に曲がることを示している。次に、DNAと同じ性質（すなわち、同じ質量、長さ、基準振動数、ポテンシャルエネルギー）を持った等質的な理想的弾性棒とDNAとの比較を行ったところ、曲げの様子が極めて良く似ていることが分かった。このことから、これらのモードが、かなり純粋な曲げのモードであることと、DNAが等質的な弾性棒のように振舞うことが分かった。

論文審査の結果の要旨

申請論文は、基準振動解析法による核酸分子の動的構造解析の研究成果であり、主論文の内容は二つに分かれている。第一部は、転写RNA分子の動的構造解析の研究、第二部は、二重らせんDNA分子の特に弾性的な面に注目した動的構造解析の研究である。

基準振動解析法は、計算効率の有利さから二面角系で、多くの生体高分子、特にタンパク質に対して適用されてきた。この方法を、核酸に対して適用する場合、その構成要素である糖の内部運動を固定しなければならなかったが、近年、アルゴリズムが改良され、糖を固定しなくても、基準振動解析法が適用できるようになった。この研究は、このアルゴリズムを用いて計算を行っている。申請者が、タンパク質に対して行われた基準振動解析の結果を踏まえ、核酸特有の性質に注目した研究を行っている点は、評価に値する。

第一部では、転写RNA分子に対し基準振動解析法を適用し、その動的構造を解析している。転写RNAは、DNAに貯えられた遺伝情報をアミノ酸配列に置き換えるという重要な働きを持った分子である。申請者は、まず、この分子全体の動的構造に着目して解析を行っている。ここではタンパク質分子と比較して、転写RNA分子が柔らかいことを指摘し、タンパク質分子（BPTI）に対してなされた基準振動解析の結果との比較から、この柔らかさが、分子の細長い形態に由来することを示している。申請者は、次に局所的な動的構造に着目して解析を行っている。この分子中には、他の塩基とスタッキング相互作用をしていない塩基がごく少数あることが分かっているが、それらの塩基周辺の糖-リン酸骨格（主鎖）上にある二面角の熱揺らぎは、他の部分よりも、かなり大きいことを示している。この原因を見るため、二面角の揺らぎの相関係数を求めている。この結果から、塩基間のスタッキング相互作用が、糖-リン酸骨格の熱揺らぎを抑えていることを指摘している。核酸構造におけるスタッキング相互作用の重要性を、熱揺らぎの観点から示している点で評価できる。次に、アンチコドン領域が1本らせん上にあるにもかかわらず、アンチコドン領域の3塩基間の熱揺らぎが、二重らせん上にある塩基間の熱揺らぎと同程度であることを示し、メツセンジャーRNAとの相補的な結合に有利であるとしている。アンチコドン3塩基間の熱揺らぎが小さいのは、この領域の糖-リン酸骨格上の二面角の熱揺らぎが、リン酸と塩基との特殊なスタッキング相互作用により、抑えられているためだとしている。この解析にあたって、申請者は、配列上隣り合う塩基間の相対配置を

記述するparameter (tilt, roll, twist, shift, slide, rise) の熱揺らぎ量の計算手法を新たに開発したことは、高く評価できる。

第二部では、二重らせんDNA分子に対して基準振動解析法を適用し、特にこの分子の弾性的な面に注目した動的構造解析を行っている。DNA のスーパーコイルリングを扱った解析的な研究においては、しばしばDNAを等方的で等質的な弾性棒とみなす仮定がなされてきたが、この研究は、その仮定が正当であることを、原子モデルから示すことである。申請者は、解析においては、分子内の各原子の運動ではなく、そのらせん軸の運動に注目している。そのために、まず、静止状態のDNAのらせん軸を定義し、次に基準振動解析法により得られた原子揺らぎベクトルを用いて、運動状態のDNAのらせん軸を決定している。DNAのグローバルな運動状態を、視覚的に、容易に判別できる効果的な手法を開発した点は、評価できる。長さや配列の異なる4つのDNAに対して基準振動解析を行い、らせん軸の運動を解析した結果、まず、DNAがらせん軸に垂直などの方向にも等方的に曲がることを示している。次に、振動論を用いて、DNAが等質的な弾性棒のように振る舞うことを示している。このように、原子レベルの解析的な研究により、DNAの弾性棒近似に正当性を与えた点は評価に値する。

よって、本論文は、博士（理学）の学位論文として価値があるものと認めた。