

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 7400 号
------	--------------

氏 名 河合 隼人

論 文 題 目

Study on Structural Analysis of Nucleic Acids and Energy Migration between Identical Chromophores by using Orientation-dependent FRET System

(配向依存FRETシステムを使用した核酸構造解析と同種色素間エネルギー移動に関する研究)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	工学研究科	教授	浅沼 浩之
委員	名古屋大学	工学研究科	教授	鳥本 司
委員	名古屋大学	理学研究科	教授	田中 健太郎
委員	名古屋大学	工学研究科	准教授	樫田 啓

論文審査の結果の要旨

河合隼人君提出の論文「Study on Structural Analysis of Nucleic Acids and Energy Migration between Identical Chromophores by using Orientation-dependent FRET System (配向依存FRETシステムを使用した核酸構造解析と同種色素間エネルギー移動に関する研究)」は、配向依存型のFRETシステムを設計・応用し、天然および非天然核酸の構造解析と、同種色素間におけるエネルギー移動機構の実験的な解明について論じており、全5章で構成されている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、研究背景として、本研究を行うにあたって関連する研究について記している。はじめにFRETの距離と配向依存性についてまとめるとともに、DNAを用いた距離と配向に依存するFRETシステムに関する先行研究や従来の核酸構造解析についてのまとめとその課題を挙げている。また同種色素間のエネルギー移動機構の重要性やその検討を行う上での課題についても記している。

第2章では、配向依存FRETシステムを用いてNickおよびGapを含むDNA二重鎖の構造と柔軟性を明らかにしている。Pyrene及びPeryleneをD-Threoninolリンカーを介してDNA二重鎖に付加的に導入し、色素間の塩基対数を変化させた際のFRET効率変化を利用して核酸構造解析を実施した。Nickを導入した場合、標準的なDNA二重鎖と比較して配向依存性は弱まり、DNAの柔軟性が増加していることを示した。またGapを導入した場合は、1塩基GapではNickと比較して色素配向が変化するのみに留まっていたものの、2塩基Gapでは配向依存性がさらに弱まり、3塩基Gapとなると配向依存性は観察されず、二重鎖どうしがスタックせず自由に運動できる状態であることを見出した。

第3章では、より長鎖であり、紫外光反応性分子を含む核酸も構造解析可能なPerylene - Cy3 FRETシステムの開発と、このシステムを利用したStilbene導入DNAの構造解析について述べている。DNA二重鎖に導入したPeryleneからCy3へのFRETにおいても距離に加え配向依存性が観察され、またFRET効率の実験値は標準的なDNA二重鎖の構造パラメータを反映した理論値と一致し、本FRETシステムは核酸構造解析が可能であることが明らかとなった。次にDNA二重鎖中におけるStilbene会合体の構造解析を行い、Stilbeneはらせんをまかず平行に積み重なった「はしご状」の構造であることを見出した。更にStilbene 2分子の紫外光照射による[2+2] 光二量化反応によりFRET効率は変化せず、二重らせん構造をそのまま保っていることも明らかにした。

第4章では、DNAを用いた同種色素間におけるエネルギーマイグレーションについて有用な知見を得ている。同種色素間のエネルギーマイグレーションは光化学的に重要であるが、Donor発光とAcceptor発光を区別できず実験的な機構の解明を困難にしている。そこでDNAにD-Threoninolを介して蛍光色素(Perylene) 2分子に加え、消光色素(Anthraquinone)を1分子導入し、蛍光色素間のマイグレーション効率を消光度合いから算出できる設計を用意した。マイグレーション効率は、Perylene間の核酸塩基対数の増加に伴う距離に加え配向依存性が確認され、更にFRET理論に基づく理論値と非常に良い一致を示した。Perylene間でのエネルギーマイグレーションは異種色素間におけるFRET理論と同一の理論で説明可能であることを実験的に明らかにする事に成功した。

第5章では、第4章と同様の設計を用いて2つのPyrene間におけるエネルギーマイグレーションの定量分析を実施している。消光色素であるAnthraquinoneはPyreneからAnthraquinoneへのFRETも発生する色素である。Pyrene-Anthraquinone間でのFRETの影響を除いたうえでPyrene間のエネルギーマイグレーション効率の実験値とFRET理論に基づいた理論値を比較したところ、両者は非常に良い一致を示した。Pyrene間でもエネルギーマイグレーションは発生し、かつ異種色素間でのFRETが同時に発生した場合でも、FRET理論で説明可能なエネルギーマイグレーション(homo FRET)を正しく評価できることを実験的に明らかにした。

以上のように、本論文ではDNAにD-Threoninolリンカーを介して蛍光色素を導入した距離と配向が制御されたFRETシステムにより、溶液中における核酸構造情報の取得に成功した。この核酸構造解析法は幅広い核酸へ適応できることが期待される。また同種色素間におけるエネルギー移動機構の実験的な解明にも成功している。この結果は光捕集アンテナや人工光合成システムを設計するのに有用な知見である。本論文を通じて得られた成果は今後の核酸化学分野や光化学分野における様々な研究に大きく貢献するものである。よって、本論文の提出者である河合隼人君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。