

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 梁 興国

本論文は、光応答性 DNA による DNA 二重鎖および三重鎖の形成と解離の光制御に関するものである。この研究は、アゾベンゼンを DNA の側鎖に導入するという新しい方法に基づき、光照射による DNA 二重鎖（あるいは三重鎖）の形成と解離の光制御に、世界で初めて成功している。本手法では、DNA 構造の可逆的な変化が可能なので、単なる基礎研究にとどまらず、さまざまな生化学反応の制御、さらには生体機能の制御への応用が可能であると期待される。

第 1 章は序論であり、DNA の構造と機能、antisense 法と antigene 法による遺伝子発現の制御および外部刺激による DNA 機能の制御などをまとめ、本研究の背景と各章の目的について述べている。

第 2 章では、DNA に導入したアゾベンゼンのシス - トランス異性化による DNA 二重鎖の形成と解離の光制御について述べている。DNA の溶液に UV 光 ($300 < \lambda < 400 \text{ nm}$) を照射すると、アゾベンゼンはシス体に異性化し、二重鎖は解離する。それに対し、可視光 ($\lambda > 400 \text{ nm}$) を照射すること *trans* 体に戻り、DNA 二重鎖は再形成する。この制御は可逆的であり、温度、pH、イオン強度等の要因を一切変化させずに、特定波長の光照射のみで実現している。更に、修飾 DNA の光制御能の配列依存性、アゾベンゼンの導入形態およびジアステレオマーの光制御能の違いなどを詳細に検討し、光制御の最適化が行なわれている。

第 3 章では、アゾベンゼンを導入した DNA 二重鎖の構造を、NOESY、COSY、および HOHAHA 等の NMR 測定により決定している。また、紫外可視、CD スペクトルによる分析およびコンピューターのシミュレーションを行ない、DNA 二重鎖の形成と解離の光制御の機構を解明した。平面構造を持つトランス - アゾベンゼンは、DNA 塩基対の間にインターカレートし、スタッキングにより二重鎖を安定化する。一方、シス - アゾベンゼンは、非平面の構造を持つので、立体障害により二重鎖を不安定化することを明らかにしている。従って、温度一定の条件下で UV 光を照射すると、DNA 二重鎖は解離し、再び可視光を照射で、二重鎖が再形成される。

第 4 章では、3 章の知見をもとに、さらに優れた光応答性 DNA を設計している。1) *meta*-アミドアゾベンゼンを *para*-アミドアゾベンゼンの代わりに DNA に導入することで、シス体アゾベンゼンの熱異性化を顕著に抑えることに成功している。2) 二炭素リンカーを三炭素リンカーの代わりに使用することで、シス - トランス異性化による T_m の変化は大きくなり、より効率的な光制御を実現している。3) 更に、トレオニノールリンカー ($\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$) を使用することにより、熱に安定で (シス体アゾベンゼン)、

しかも光制御効率の良い光応答性 DNA の合成に成功している。また、2)と 3)の光応答性 DNA は、キラルなリンカーを用いているので、エナンチオ選択的にアゾベンゼンを導入することが可能となる。

第 5 章では、antisense 法による遺伝子発現の光制御を目的とし、アゾベンゼンを含む光応答性 DNA と native の RNA を用い、RNA/DNA 二重鎖の形成と解離の光制御について述べている。また、紫外可視、CD スペクトルによる分析およびコンピューターモデリングにより、その光制御の機構も明らかにしている。

第 6 章では、アゾベンゼンを導入した光応答性 DNA による三重鎖の形成と解離の光制御について述べている。光制御の Duplex target 配列への依存性とアゾベンゼンの DNA 中の導入位置の影響などが詳細に検討されている。*para*-アミドアゾベンゼンを配列の中央部に導入する場合、 T_m の変化 (ΔT_m) は 30 °C 以上になり、効率的な光制御に成功している。また、二つのアゾベンゼンの導入により、 ΔT_m は 50 °C を越える。同様に、UV、CD およびコンピューターシミュレーションにより、DNA 三重鎖形成の光制御の機構を解析し、それぞれの光応答性 DNA の光制御能の違いについても明らかにしている。

第 7 章では、アゾベンゼンの代わりに、フェニルアゾナフタレンを DNA に導入し、ほぼ完全な三重鎖の形成と解離の光制御の実現について述べている。

第 8 章では、本論文により得られた結論とその意義を述べ、ポリメラーゼ反応の光制御など、DNA に関する様々な生体反応の光制御への展開について述べている。

以上の様に、本論文は DNA 二重鎖あるいは三重鎖の形成と解離の光制御に成功し、審査会で高い評価を得た。特に、核酸機能の可逆的な光制御が実現できれば、遺伝子治療、遺伝子操作などの技術が特定波長の光照射のみで、自由にコントロールすることが可能となる。さらに、分子レベルで細胞中の生化学反応が簡易に制御できれば、様々な生命活動の機構をより詳細に調べるための有用なツールとなりうる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。