

(別紙 2)

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 新田義倫

DNA は蛋白質や生理活性小分子と相互作用することで多くの生命現象に関与しているため、DNA-リガンド相互作用の解析は重要である。ポルフィリンのソーレ帯は近紫外領域にある DNA の吸収帯と離れた位置に存在し、吸光度が強いため、スペクトルの解析が比較的容易という利点がある。このため、ポルフィリンは DNA-リガンド相互作用の研究対象として優れており、多くの研究が行われてきたが、ポルフィリンが DNA に複数の結合様式で結合するため、定性的研究に限られていた。

Manganese (III)-tetra (4-N-methylpyridyl) porphyrin (MnTMpyP)は複数の結合様式で DNA に結合するが、軸配位子をもち DNA の塩基対間にインターカレーションしないため DNA のコンフォメーションを大きく変えることがなく、解析が比較的容易と考えられる。また、MnTMpyP はアキラルで、キラルな DNA に結合した MnTMpyP のみが CD を示すために、CD スペクトルを用いた研究から、結合様式の違いを敏感に反映した結果が得られると期待される。

新田氏は、新たに開発した方法で、ソーレ帯の誘起 CD を用いて、DNA · MnTMpyP 相互作用を初めて定量的に解析した。解析の結果、CD スペクトルは極めて精度良く結合様式ごとに分解され、結合様式ごとの CD スペクトルの形と強度、1 分子の MnTMpyP が結合する塩基対数等が明らかになった。また、major あるいは minor groove に結合することが知られている化合物を阻害剤として DNA · MnTMpyP 溶液に加え、CD スペクトル変化を調べた。それらの結果を総合して、それぞれの結合様式の DNA 結合部位を明らかにし、立体構造を考察した。

第一章では、研究の背景、目的、概要を記した。研究の背景と目的として、DNA-リガンド相互作用、DNA-ポルフィリン相互作用に関する既存の研究、MnTMpyP や実験方法を選んだ理由等について記した。

第二章では、実験方法について記した。これまで報告されている論文の測定方法ではポルフィリンのセルへの吸着について注意が払われていなかったが、本論文では、吸着の影響が CD スペクトルに現れないように注意深く測定した。

第三章では、本論文で新たに開発したスペクトルの分解方法を記した。まず、DNA 濃度で CD スペクトルを規格化した。 $r$  値(DNA1 塩基対あたりのリガンド分子数)が 0 から大きくなるにつれポルフィリンはより多くの結合様式で DNA に結合するようになる。そこで、 $r$  値が 0 から大きくなるにつれ現れる結合様式(mode 1, mode 2, mode 3...と命名)が、この順に飽

和してゆく事を、 $r$  値による CD スペクトルの変化から予想して解析を進めた。

CD スペクトル  $CD(\lambda)$  は  $CD(\lambda) = \sum_i l_i \cdot B_i(\lambda)$  で表すことが出来る。ここで  $l_i$  は mode  $i$  の強度を表す係数で、 $B_i(\lambda)$  は mode  $i$  の基底スペクトルである。スペクトルの分解には、まず、線形最小二乗法を用い、飽和する mode の順、等吸収点などを手掛かりに、 $B_i(\lambda)$  を求めた。次に、線形最小二乗法によりすべての実測スペクトルを  $CD(\lambda) = \sum_i l_i \cdot B_i(\lambda)$  として curve fitting し  $l_i$  を得た。

また、スペクトルの分解結果から、線形最小二乗法を用いて、それぞれの mode についてサイトの塩基対数そして、MnTMPyP 1  $\mu$ M 当たりのスペクトルを見積もった。

第四章では、実験結果及び、解析結果を記した。MnTMPyP  $\cdot$  poly(dA-dT)<sub>2</sub>, poly(dI-dC)<sub>2</sub>, CT DNA は共に 3 つの mode、mode 1, 2, 3 で分解でき、基底スペクトルおよび、 $r$  値に対する  $l_i$  の変化は類似していた。MnTMPyP  $\cdot$  poly(dG-dC)<sub>2</sub> には、mode 2 がなく、前出の mode 1, mode 3 に類似した 2 種類のスペクトルに分解できた。すべての実測スペクトルについて、残差は無視できるほど小さく、実測スペクトルは基底スペクトルの線形結合で見事に再現できることが明らかになった。すなわち、結合様式毎に、基底スペクトルとスペクトル強度の  $r$  値による変化を定量的に明らかにすることができた。

さらに、minor groove に結合する事が知られている berenil を MnTMPyP  $\cdot$  poly(dA-dT)<sub>2</sub>, poly(dI-dC)<sub>2</sub> 溶液に加え、CD スペクトルの変化を調べた。また、major groove に結合する事が知られている methyl green を MnTMPyP  $\cdot$  poly(dA-dT)<sub>2</sub> 溶液に加え、CD スペクトルの変化を調べた。

第五章では、実験結果から示唆される事等について考察した。全ての CD スペクトルは、3 種類の mode のスペクトルで、無視できる程度の残差で精度良く分解できた。これは、本研究で行った CD スペクトルの解析方法の精度の高さ、そして汎用性の高さを示している。

MnTMPyP の結合様式について以下の事が明らかになった。mode 1 では MnTMPyP は major groove で結合し、正のピークを持つ CD スペクトルを示す。mode 2 では MnTMPyP が minor groove 奥深くで結合し、2 つの正のピークとその間の波長に 1 つの負のピークを持つ CD スペクトルを示す。mode 3 では MnTMPyP は minor groove の外側に結合し、短波長側に弱い負のピーク、長波長側に正のピークを持つ CD スペクトルを示す。さらに、MnTMPyP  $\cdot$  DNA 複合体の立体構造を考察した。

以上本論文は、これまで定性的に行われてきた CD スペクトルによる DNA $\cdot$ ポルフィリン相互作用の研究に対して、初めて定量的な解析を行ったもので、DNA $\cdot$ ポルフィリン相互作用の研究に重要な貢献をなすと考えられる。

従って、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。