

氏名	<small>もりかわ まさゆき</small> 森川 雅行
本籍	兵庫県
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 香薬 第 5 号 （課程博士）
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 17 日
学位授与の要件	徳島文理大学大学院学位規程第 3 条第 1 項該当
学位論文の題目	4 本鎖 DNA におけるグアニン酸化生成物の解析
論文審査委員	(主査) 教授 山口 健太郎 (副査) 教授 丸山 徳見 (副査) 教授 代田 修

学位論文内容の要旨

DNA 末端のテロメア配列やがん原遺伝子 **c-myc** のプロモーター配列など、生体中で重要な役割を果たす配列において DNA が 4 本鎖を形成可能なことが知られている。4 本鎖に酸化生成物が生じると、その種類や位置によって 4 本鎖の安定性が変化し、ひいてはテロメラーゼによるテロメア伸長やがん原遺伝子の転写活性に影響を与えると推定される。しかし、現状では、4 本鎖 DNA でどのような酸化生成物が生じるのかすら明らかになっていない。そのため、本研究では 4 本鎖 DNA の酸化生成物を詳細に解析し、1 本鎖、2 本鎖の酸化生成物と比較した。その結果、4 本鎖 DNA の酸化生成物は 1 本鎖、2 本鎖どちらの酸化生成物とも明確に異なることをはじめて明らかにしている。

さらに、酸化生成物の種類の変化に着目して 1 本鎖、2 本鎖、4 本鎖における酸化経路について考察している。その結果、グアニンラジカルカチオンの脱プロトンという過程に着目することで、DNA 局所構造と酸化生成物の種類の相関性を見出すことができた。さらに今回明らかにした相関性により、これまで不明だった過去の 2 本鎖 DNA 酸化反応をも説明できるようになった。

また、4 本鎖 DNA においてグアニンの酸化される位置は 3' 側に偏っていることを明らかにした。分子軌道法により 4 本鎖の HOMO を計算した結果、3' 側グアニンへの偏りが見られ、3' 側グアニンの特異的酸化は HOMO の偏りによるも

のだということを理論的に明らかにした。

この様に、本研究を通して 4 本鎖における酸化損傷の種類、位置および量を詳細に明らかにしている。d(TGGGGT)よりも長い配列での解析に関しては、すべての酸化生成物を捕捉することはできず、酸化損傷の種類、位置および量も一度に解析することは困難であると考えられるが、本研究結果を活用し、長鎖の DNA においても酸化解析しきれない部分を補完することができると推測される。

1) 論文審査の要旨

グアニンを多量に含む遺伝子配列は 4 本鎖を形成し、遺伝子終端に出現するこの配列は細胞寿命に関連すると言われている。一方、グアニンは環境中の光や活性種により容易に酸化を受けることが知られており、その化学変換機構に興味を持たれている。

本論文において、1 本鎖、2 本鎖および 4 本鎖の d(TGGGGT)をそれぞれ作成し、これらを光酸化してそれぞれの酸化生成物を単離し、解析した結果が述べられている。それによれば、4 本鎖 DNA では 8-オキシグアニン(oxoG), およびその酸化生成物が主に検出され、1 本鎖、2 本鎖の酸化生成物とは異なることを見出した。さらに、酸化経路の違いから 1 本鎖、2 本鎖、4 本鎖の酸化生成物が異なる理由について考察している。また、4 本鎖の光酸化では、3'側に最も近いグアニンでのみ酸化生成物が検出され、この場合も 1 本鎖、2 本鎖とは異なっていた。さらに分子計算により求めた HOMO の偏りが 4 本鎖における酸化位置と完全に一致していることから、4 本鎖における特異的な酸化は HOMO の偏りによって引き起こされたことを明らかとした。

本論文によりはじめて明らかとされた事項を以下に列挙する。

- はじめて HPLC による 4 本鎖 DNA の単離を達成した。
- 単離した 4 本鎖 DNA の酸化生成物の解析をはじめて行い、1 本鎖、2 本鎖 DNA の酸化生成物との比較を行った。
- 1 本鎖、2 本鎖、および 4 本鎖 DNA の反応経路を詳細に検討した。
- HOMO の偏りにより 4 本鎖 DNA における酸化位置の偏りを合理的に説明した。

以上の研究結果について 4 本鎖と 1 本鎖の比較を論文として英国王立化学会の学術雑誌に投稿、速報として掲載された(*RSC Adv.* **2013**, *3*, 25694-25697.)。

また、2本鎖の解析を加え、詳細な反応経路の考察を行った結果をフルペーパーの論文としてスイスの学術出版社に投稿、掲載された(*Biomolecules* 2014, 4, 140-159)。また、学会発表により第35回光医学・光生物学会での賞をはじめ、他2つの賞を受賞した。さらに、この研究課題は日本学術振興会特別研究員の研究課題として採択されている。

この様に、本論文は核酸分子生物化学および周辺学術領域の各分野において有意義な情報を提供し、以て当該分野の発展に寄与する内容であると判定した。

よって、本論文は博士(薬学)の学位に値する価値あるものと認めた。

2) 最終試験結果の要旨

主査および副査2名それぞれの口頭試問により、有機化学、分子生物学、分析化学についての試験を実施し、十分な知識と学力を有していることを確認した。但し、これらの試問の平均得点 XXXXXXXXXX ※

尚、論文提出者は徳島文理大学大学院香川薬研究科博士前期課程を了していることから、語学(英語)の試験は免除した。

以上により、最終試験結果は、合格と判定した。

※ 実際の点数記載部分につき削除