

論文審査の結果の要旨

氏名 畑 宏 明

本論文は 5 章からなり、英語で記されている。第 1 章はイントロダクションであり、核酸のハイブリダイゼーションに関する先行研究や、現在残された問題点および研究目標について述べられている。核酸のハイブリダイゼーションとは、一本鎖の核酸 2 つが塩基対をつくって二本鎖を形成することである。核酸の塩基配列に基づいてハイブリダイゼーションの熱安定性や反応速度を予測可能にすることは、学術的に重要であるだけでなく、バイオテクノロジーへの応用においても重要である。これまでに、ハイブリダイゼーションの熱安定性については詳細に調べられてきたが、その反応速度については未解明の点が残されていた。特に近年、一本鎖 DNA が単独で作る構造が、ハイブリダイゼーションの反応速度にどのような影響を及ぼすのかを解明することが重要な課題になっている。一本鎖 DNA は、その塩基配列に依存して、ヘアピンのような二次構造を形成しうることが知られており、このような二次構造の増加に伴って、DNA のハイブリダイゼーション反応が遅くなることが報告されている。しかし、先行研究で用いられた塩基配列の種類は少なく、また、安定な二次構造を持つ配列に限定されていた。そこで本研究では、安定な二次構造から不安定な二次構造まで、様々な二次構造を形成しうる多種類の塩基配列を用いて、一本鎖 DNA の構造がハイブリダイゼーション速度に及ぼす影響を包括的に解析することを目標とした。また、塩基配列に基づいて DNA のハイブリダイゼーション速度を予測する方法の開発を目標とした。

第 2 章は本論文の中心的な章であり、様々な二次構造を形成しうる 47 種類もの塩基配列を用いて、一本鎖 DNA の二次構造がハイブリダイゼーション速度に及ぼす影響を解析している。ハイブリダイゼーション反応はストップフロー蛍光法で測定され、反応曲線は単純な二次反応のモデルで解析できた。得られた反応速度は、塩基配列に依存して数百倍も異なっており、一本鎖 DNA が形成する二次構造の安定性と相関していたことが述べられている。また、この実験結果を説明するための反応モデルを提唱し、DNA の塩基配列に基づいてハイブリダイゼーション速度を理論的に計算する手法を開発したことが述べられている。この反応モデルでは、一本鎖 DNA が二次構造を形成した状態と、一本鎖 DNA の二次構造が壊れた状態の間に平衡が存在すると仮定し、各状態の濃度と、各構

造の中にあるハイブリダイゼーション可能な領域の数を塩基配列依存的に計算して、それらを用いて、観測されうるハイブリダイゼーション速度を予測している。さらに、これらの結果から、一本鎖 DNA がつくる構造のうち、一本鎖塩基スタッキング (SSBS) と呼ばれる構造がハイブリダイゼーション速度に影響する可能性が議論されている。

第 3 章では、第 2 章と同様のハイブリダイゼーション速度の研究を、DNA マイクロアレイの手法により、100 種類もの塩基配列を用いて行っている。この場合にも、一本鎖 DNA が形成する二次構造が多いほど、ハイブリダイゼーション速度が遅くなることが述べられている。ただし、第 2 章の実験は溶液中での反応であるのに対し、第 3 章の実験はマイクロアレイの表面で起きる反応であるため、第 2 章のモデルを修正したモデルが妥当であることが述べられている。

第 4 章は、第 2 章で議論された SSBS の安定性を調べるために、4 塩基の一本鎖 DNA の分子動力学シミュレーションを網羅的に行った結果が述べられている。シミュレーションから得られた結果は、第 2 章の実験で得られた結果と矛盾していないことから、SSBS が DNA のハイブリダイゼーション速度に影響しうることが述べられている。さらに、SSBS が第 2 章の実験系においても存在しうることを実験的に示したことが述べられている。

第 5 章では、以上の研究成果を総括しており、本研究の結果が、今後、様々なバイオテクノロジーに応用しうることや、RNA 干渉による遺伝子発現の調節などにも適用可能なことが議論されている。

以上のように本論文は、核酸のハイブリダイゼーション速度が、一本鎖 DNA の不安定な二次構造や SSBS によっても大きく影響されうることを初めて示した点に新規性がある。また、ハイブリダイゼーション速度を予測しうる方法を開発したことは、学術的に意義があるだけでなく、バイオテクノロジーへの応用の観点からも意義深い。

なお、本論文第 2 章は、北島哲郎、陶山明との共同研究、第 3 章は陶山明との共同研究、第 4 章村井亮介、陶山明との共同研究である。しかし、これら全ての研究は、論文提出者が主体となって解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。