

Title	核磁気共鳴による核酸塩基対の溶液中における研究
Author(s)	岩橋, 秀夫
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32630">https://hdl.handle.net/11094/32630</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 【2】

氏名・(本籍)	いわ 岩	はし 橋	ひで 秀	お 夫
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	4856	号	
学位授与の日付	昭和55年3月25日			
学位授与の要件	理学研究科 無機及び物理化学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	核磁気共鳴による核酸塩基対の溶液中における研究			
論文審査委員	(主査) 教授	京極	好正	
	(副査) 教授	桑田	敬治	教授 加藤 俊二

## 論 文 内 容 の 要 旨

遺伝情報伝達の荷手である核酸はその遺伝情報を塩基対間に存在する特異的相互作用を通して伝える。その特異的相互作用の存在はポリマー、オリゴマーレベルのみでなくモノマーレベルでも実証されている。しかしモノマーレベルでの塩基対のX線回析の結果は、Watson-Crick型構造を与えない。そこで筆者は溶液内で考え得る2量体構造（Watson-Crick型、逆 Watson-Crick型、Hoogsteen型、逆Hoogsteen型）がどのような比率で存在するかを $^{13}\text{C}$ NMRと $^1\text{H}$ NMRを用いて決定した。9-エチルアデニンと1-シクロヘキシルウラシルの混合溶液の $^{13}\text{C}$ NMRスペクトルの濃度変化をみるとウラシルのC-2とC-4のカルボニル炭素が大きな濃度依存性を示した。この結果よりC-2とC-4カルボニル基を用いた会合体がそれぞれかなりの程度存在することがわかった。次に低温下（ $-56^\circ\text{C}$ ）で9-エチルアデニンと1-シクロヘキシルウラシルの混合溶液の $^1\text{H}$ NMRスペクトルをとるとアデニンのアミノプロトンがその制限回転のため2本に分離観測された。この2本のシグナルはそれぞれN-1窒素に対してSynとAntiのアミノプロトンであると寄属した。この系で濃度変化をしらべてみるとAntiアミノプロトンの方がより大きな濃度依存性を示し、直接水素結合に関係していることがわかった。すなわちHoogsteen型の2量体がWatson-Crick型のそれに比べて多く存在していることを示した。この $^{13}\text{C}$ と $^1\text{H}$ NMRの結果を非線型最小二乗法により解析することによりそれぞれの状態の極限シフトを算出し、その結果を解釈することにより各構造は次のような比率で存在することを示した、Watson-Crick型（17%）、Hoogsteen型（41%）、逆 Watson-Crick型（13%）、逆Hoogsteen型（29%）。他の各種ウラシル誘導体とアデニン誘導体についても同様の実験を行ない、各ウラシル誘導体に対しC-4カルボニルは次の比率でA U塩基対の水素結合に用いられていることがわかった、2-チオウラシル（81%）、

チミン (62%), ウラシル (58%), 5-プロモウラシル (56%), 4-チオウラシル (40%)。アデニン誘導体については次の比率で Watson-Crick 体が存在する, 8-プロモアデニン (93%), 2-クロロアデニン (0%), N<sup>2</sup>-メチルアミノアデニン (98%), N<sup>2</sup>-ジメチルアミノアデニン (9%), 2-アミノプリン (91%), アデニン (30%)。

一方<sup>1</sup>H NMRで飽和移動(一方の核の磁気的な飽和が化学交換を通してもう一方の核に移動する)の実験を行ない塩基対間(A-U, G-C)で直接的なプロトンの交換のあることを見出した。

以上溶液内で非 Watson-Crick 型塩基対がかなりの程度存在すること, そして塩基対内で直接的なプロトンの交換があることを見出された。このような現象は突然変異などの生物学的な過程に何らかの関連があるのではないかと思われる。

### 論文の審査結果の要旨

核酸中ではアデニンとチミン(またはウラシル), グアニンとシトシンという塩基間に選択的な水素結合対が形成される。これら塩基対は単量体のレベルで非水溶液中でも形成されることが知られている。しかしその場合核酸中で実現されているといわれる構造を必ずしもとっていないことが指摘されていた。

岩橋君はこの問題に対して<sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H核磁気共鳴法によって溶液中における塩基対の構造分布を明らかにした。すなわちウラシル誘導体のカルボニル基の<sup>13</sup>Cシグナルの水素結合シフトの定量から, ウラシルの2位と4位の二つのカルボニル基が使用される割合がほぼ等しいが, 置換基の導入によってその量比が影響されることを明らかにした。また低温においてアデニン残基のアミノ基のシグナルが2本に分離して観測される現象を見出し, それを利用してアデニンの1位または7位の窒素原子を水素結合受容体として用いられるものの比率を算出することに成功した。両者の結果を組合せると溶液中で存在すると考えられる4種の二量体の各々の比率を推定することが可能となり, その結果は安定化エネルギーの計算より予測される結果とよい対応を示す。

この研究の途中塩基対中の片方の塩基のアミノまたはイミノプロトンを照射すると, 相手の塩基のアミノまたはイミノ基に磁気的に飽和したプロトンが移動する現象を発見し, その原因を説明するモデルを考えた。これらの現象は溶液中において塩基対といわれるものが構造的にも時間的にも固定されたものでなくて, 各種の分布があり, それはまた核酸塩基への置換基によって影響されることが明らかとなった。このことは化学誘導変異等の生物学的な意義と合わせ考えると興味深い。

以上の成果は, 核酸塩基対の溶液中の構造分布を明らかにしたものであり, その方法, 結果ともに広く引用されており, 理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。