OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Precise Structure Determination of a DNA Oligomer by NMR
Author(s)	児嶋, 長次郎
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3100506
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	児嶋 長次郎（こじま ちょうじろう）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 11724 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科無機及び物理化学専攻
学位論文名	Precise Structure Determination of a DNA Oligomer by NMR （NMRによるDNAオリゴマーの精密構造解析）
論文審査委員	（主査） 教授 京極 好正 （副査） 教授 中村 亘男　教授 松尾 隆祐

論文内容の要旨

核酸（DNAやRNA）はX線結晶回折で決定された構造とNMRで決定された溶液中での構造とが異なっている場合が多い。しかしこれまでにNMRで決定された核酸構造の精度はX線結晶回折で得られるものと比較すると著しく低い。X線結晶回折法とは異なり，NMRを用いた核酸の構造決定はNOEによる距離（5Å以内）情報を多数集めコンフォマー内の構造分散を最小化する事により達成される。

〈NMR信号の帰属法の改良〉構造解析を行うためにはまず核磁気共鳴ピークの帰属を行わなければならない。核酸のNMRでは信号が混み入って複雑なため帰属の曖昧さが残る。そこで曖昧さを減少させるために，既存方法の組み合わせによって帰属法を改良し，核酸塩基由来の^{1}Hシグナルを選択するNMR技法を幾つか考案した。

〈構造の精密化〉精密構造の決定過程において，各操作の物理的意味が明らかになる様に誤差指標を考案し，その指標を用いて各操作の精度を数値化した。（NOEの定量化）NOESYピークの積分値を定量化するためにまず誤差評価法を考案した。導入した指標はRsym因子であり，等価なNOESYピークに対しその強度Iと平均値〈I〉から計算される。Rsym（NMR）$=\Sigma|I-\langle I\rangle|/\Sigma I$。このRsym因子を用い様々な要因による誤差を見積った。（単一相関時間モデルの妥当性の検討）標準的な完全緩和行列計算プログラムであるMARDIGRASを用いプロトン間距離を計算した。基準とした120msecの混合時間で得られたピーク積分値から計算された距離は90，150，200msecの3つの混合時間で得られたピーク積分値から計算された距離との間に強い相関が見られ，精度は低いものの単一相関時間モデルで説明された。（構造計算）実際の計算には標準的なプログラムであるX－PLORを用いた。単一相関時間モデルを採用し直接完全緩和行列法と分子動力学法を組み合わせてエネルギー最小化による構造精密化を行った。相関時間としては2nsecを用い，入力情報としてはNOESY混合時間90，120，150，200msecから得た4種類の積分値を一緒に用いる事を行ってみた。4種類を独立に用いた結果と比較すると精度が著しく向上した。この結果から4種類の積分値を一緒に用いる事で入力情報を疑似的に増やす事が可能であり，計算結果の精度を向上させられる事が解かった。（構造の信頼性）決定された構造から5Å以内の水素核間距離を全て数値化し，これらを入力情報としてディスタンスジオメトリー法により座標を得た。入力情報の精度を変える事で得られた座標の精度が変化した。

以上本研究は，NMRを用いた核酸の構造決定法自体の信頼性を評価し，向上させる目的で行われた。今まで具体的に信頼性を評価する事無しに行われてきた核酸の構造決定は，筆者の導入した幾つかの方法によって質的に見直す必要性がある事が解かった。すなわち，ただ単にNOEによる距離情報を多数集めるだけで無く，NOEを高精度に

定量化し，距離情報を用いず観測値であるＮＯＥ自体を再現させる様にコンフォマー内の構造分散を最小化する事が必要である。実際には，核磁気共鳴ピークの完全な帰属，ＮＯＥの高精度に定量化する方法の確立，構造分散を最小化する方法の改良，シミュレーションによる構造の信頼度因子の計算，等を要した。結果として各原子に分散の小さい座標が与えられた。

論文審査の結果の要旨

児嶋長次郎君はＮＭＲから得られる情報をもとに核酸の溶液中の構造を精度よく決めるにはどうすればよいかという問題の解決に当たった。まず，いかに重なりあうシグナルを分離し帰属するかを考えねばならない。そこでスピンースピン結合の有無を利用して分離する手法を考案した。次に，得られた帰属にもとづいて距離，二面角情報を集め，立体構造をディスタンスジオメトリーで計算し，完全緩和行列法で精密化をはかった。核酸においては，蛋白質と比べて，距離情報を与えるプロトン数が，決めるべき原子の座標の数に比べて大変少ないので，距離情報の精度が高くないと有意な構造は決まらない。そのために生じる距離情報の誤差の限界，構造計算上の精度を種々検討し，どのような注意を払えば精度の高い座標値が得られるか明らかにした。このように従来ともすれば溶液で決められる核酸構造についてその意味に疑問が提出されていたが，児嶋君の本論文は精度の高い構造を得るための問題点を明らかにし解決策を示した点で，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。