OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies on Conformational Dynamics of Oligonucleotide and Its Photoregulation
Author(s)	徐, 潔
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85255
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Form 3

Abstract of Thesis

Name（XU JIE）	
Title	Studies on Conformational Dynamics of Oligonucleotide and Its Photoregulation (オリゴヌクレオチドのコンフォメーションダイナミクスとその光制御に関する研究)

Abstract of Thesis

The proper functioning of biomolecules comprises the core of cell life. The conformational diversity of biomolecules plays a pivotal role in their functions. Biomolecules such as proteins, polypeptides, and nucleic acids are all dynamic macromolecules and have several common characteristics. They all exhibit a fundamental relationship between conformation and function and they all have transient conformations that are dependent on time and the surrounding environment. Studies focusing on the conformational dynamics of biomolecules are critical in gaining knowledge on the organizations and activities of biomolecules in the fundamental processes of life and thereby on clarification of disease progression. The studies can provide valuable perspectives on many up-to-date unsolved problems. For example, how a protein molecule folds from the primary structure to the intricate 3D functional structure, and how RNA folds into elaborate structures, to name but a few.

Nucleic acids, DNA and RNA, are biomolecules carrying the genetic information necessary to create life and specify the function of any particular organism. Besides, they are of crucial functional importance in various physiological activities. Conformational transition is the basis for many oligonucleotides to accomplish their crucial physiological roles. For example, looping of sing-stranded DNA (ssDNA) may be a strategy during the unwinding of DNA duplex by DNA helicase; looping of single-stranded RNA (ssRNA) may be related with translation and the folding of RNA into versatile secondary and tertiary structures. Given both the functional and structural importance of oligonucleotide looping, it is critical to study the dynamics of oligonucleotide looping.

In this dissertation, a water-soluble Pyrene (Py) derivative, sulfonated pyrene (SPy), was synthesized and used as both a probe tracing the dynamics of oligonucleotide looping and a photoregulator controlling the conformational change of oligonucleotide. The dynamics of oligonucleotide looping was studied using laser flash photolysis. Multiple factors that affect the dynamics of oligonucleotide looping were observed and discussed, including length effect, nucleobase effect, extra hydration around 2’-OH, the absence and presence of C5-CH_3, the stabilization energy from SPy radical cation ($SPy^{\cdot+}$) to SPy dimer radical cation ($SPy_2^{\cdot+}$). At the same time, a novel method-COT-controlled triplet blinking of ATTO 647N-was developed and used for accessing the dynamics of oligonucleotide looping and detection of protein in the time range from 10^{-6} to 10^{-3} s on the subnanometer scale. The synthesis and use of SPy provide an effective and universal way to the future use of Py derivatives under physiological conditions. With water-soluble Py derivative, it is possible to study the conformational dynamics of other biomolecules. The findings on the dynamics of oligonucleotide looping provide an improved understanding of the dynamic movement of oligonucleotides in aqueous solution. This is of fundamental importance to the understanding of the motions and functions of oligonucleotides. The developed novel method-COT-controlled triplet blinking of ATTO 647N-offers an approach complementary to the widely used FRET for studying the conformational dynamics of biomolecules. All the insight gained in this dissertation contributes to the further understanding of the conformational dynamics of biomolecules.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　XU JIE　）		
論文審査担当者	(職)	氏　名
	主査　教授	藤塚　守
	副査　教授	菊地　和也
	副査　教授	松崎　典弥
	副査　教授	生越　専介
	副査　教授	木田　敏之
	副査　教授	安田　誠
	副査　教授	茶谷　直人
	副査　教授	伊東　忍
	副査　教授	鳶巣　守
	副査　教授	正岡　重行
	副査　教授	家　裕隆
	副査　教授	芝田　育也

論文審査の結果の要旨

タンパク、ポリペプチド、核酸等の生体分子はいずれもダイナミックな高分子であることが共通しており、コンフォメーション変化はその機能において重要な役割を担っている。したがって、生体分子のコンフォメーションダイナミクスを研究することは、組織や生命の機能に関する知見の獲得において重要であり、疾病等の治療においても不可欠である。生体分子のうち、核酸、DNAおよびRNAは遺伝情報をつかさどる生体分子であり、生理活性においても重要であることが知られている。そのコンフォメーションダイナミクスの重要性も知られるところであり、一本鎖DNA（ssDNA)およびRNA（ssRNA)のループ形成は構造変化と緊密な関連にあることから、本論文ではこれらのコンフォメーションの検出方法の開発および制御に関する研究を展開している。

本論文第一章では新規に合成した水溶性ピレン分子(SPy)をssDNAのコンフォメーションダイナミクスを検出するプローブ分子として用いるとともに、DNAコンフォメーション制御に適用している。SPyを修飾したssDNAに対しレーザーフラッシュホトリシスを適用し、SPyダイマーラジカルカチオン生成を時間分解分光で測定することで、ssDNAのループ構造生成ダイナミクスを検出することに成功し、ダイマーラジカルカチオンがループ構造の安定化をもたらすことを明らかにしている。

第二章ではSPyダイマーラジカルカチオン生成によるコンフォメーション検出を一本鎖RNA（ssRNA)に拡張し、そのループ形成ダイナミクスに影響する要因を検討している。特にssRNAの鎖長、核酸塩基の種類、2’位のOHの水和、C5-CH_3の影響を明らかにしている。

第三章では生体分子のコンフォメーションダイナミクスを検出する方法として、1,3,5,7-シクロオクタテトラエン(COT)を蛍光分子ATTO 647Nの三重項消光剤として用い、蛍光相関分光法で蛍光ブリンキングを高感度に観察する手法を開発している。本手法をssDNAに適用することにより、10^{-6}秒から10^{-3}秒オーダーのループ形成ダイナミクスを検出している。さらに本手法をssDNAアプタマーによる血小板由来成長因子(PDGF)プロテイン検出に適用できることを示している。

以上のように、本論文は生体分子であるオリゴヌクレオチドのコンフォメーションの制御法を示すとともにダイナミクスを高感度に検出する新たに手法を開発しその有用性を実証すものであり、疾病等の治療に有効な知見が本研究により開発された手法により得られることが期待される。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。