

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 14042 号
------	---------------

氏 名 陳 楊凌志

論 文 題 目

Studies on Fluorescent Probe Composed of Artificial Nucleic Acids for Detection of Natural Nucleic Acids
(天然核酸検出に向けた人工核酸を有する蛍光プローブに関する研究)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	予防早期医療創成センター	教授	浅沼 浩之
委員	名古屋大学	工学研究科	教授	村上 裕
委員	名古屋大学	工学研究科	准教授	樫田 啓
委員	名古屋大学	理学研究科	教授	田中 健太郎

論文審査の結果の要旨

陳楊凌志君提出の論文「Studies on Fluorescent Probe Composed of Artificial Nucleic Acids for Detection of Natural Nucleic Acids(天然核酸検出に向けた人工核酸を有する蛍光プローブに関する研究)」は、三重鎖形成型 linear probeの開発と、人工核酸D- α TNAを用いた直交性シグナル増幅回路の構築を論じており、全3章で構成されている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、研究背景として、本研究を行うにあたって関連する研究について記している。はじめにDNAの化学構造や特徴、およびナノ材料としてのDNAの応用例と問題点について述べている。次に、人工核酸を俯瞰し、特に浅沼研究室に開発されたSNA・D- α TNA・L- α TNAの特徴について述べている。さらに、既存の核酸検出法の問題点を挙げ、本博士論文における研究の目的と意義を記している。

第2章では、三重鎖形成型 linear probeの設計と、それを用いたPCR産物の検出について述べている。これまでに浅沼研究室では、perylene誘導体をD-threoninolリンカーを介してDNAオリゴヌクレオチドに導入することで linear probeを構築し、mRNAの検出が成功している。既存の linear probeは三重鎖構造に適していないため、本研究では linear probeの再設計を行い、二重鎖DNAの検出を目指している。輝度・三重鎖安定性から linear probeを評価し、色素が3残基導入された設計が最適のことが明らかになった。次に、より長い共役系を持つL型peryleneを導入することで二重鎖DNAに対する親和性を向上させることに成功した。さらに、linear probeをPCR産物の検出に応用することで二重鎖DNAを配列特異的かつ高感度で検出できることを見出した。

第3章では、直交性シグナル増幅回路を利用したRNA検出システムの構築について述べている。従来のDNA型回路は酵素耐性と生体直交性が低く、生体分子に影響されやすいため、*in vivo*への応用が大幅に制限されている。これに対し、本研究では α TNAを用いて直交性があるHCR回路を設計した。キラルな骨格を持つD- α TNA（左らせん）とL- α TNA（右らせん）は互いにエナンチオマーの関係のため、D-あるいはL- α TNAで設計したHCR回路は同種類の α TNAインプットにのみに応答して起動した。一方で、アキラル骨格を持つSNAを用いればD-とL- α TNA HCRの両方を起動することができた。またD-,L-それぞれの α TNA HCR回路を混合した溶液でも互いに干渉することなく、同じキラリティーを持つ α TNAのみに応答して起動することがわかり、デュアルOR論理回路を実現した。さらに、SNAをインターフェースにしてRNAからD- α TNAへのシグナル増幅回路を設計した。その結果、アキラルなC3スパーサーを導入することでSNAのらせん伝播を阻害し、短時間で強いシグナル増幅が観察された。このように、RNAを認識しないD- α TNA-HCR回路を、SNAをインターフェースに使用することで、RNA入力での起動することに成功した。

以上のように本論文では linear probeを利用した二重鎖DNAの高感度検出、およびRNAが検出できる直交性シグナル増幅システムの構築を実現している。本論文を通じて得られた成果は、天然核酸の検出のみならず核酸論理回路などのDNAナノテクノロジーへの展開も可能であり、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である陳楊凌志君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。