

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 乙 第	号	氏 名	佐 藤 保 信
主論文題名				
Control and Detection of Nucleic Acid Hybridization at the Interface of Polymeric Substances by Surface Plasmon Resonance (表面プラズモン共鳴を用いる高分子物質上での核酸のハイブリッド化の制御と検出)				
内容の要旨				
<p>修士(工学)佐藤保信君の学位請求論文は「Control and Detection of Nucleic Acid Hybridization at the Interface of Polymeric Substances by Surface Plasmon Resonance (表面プラズモン共鳴を用いる高分子物質上での核酸のハイブリッド化の制御と検出)」と題するものである。この中で、著者は、表面プラズモン共鳴測定装置(SPR)のセンサーチップにDNAあるいはペプチド核酸(PNA)を固定し、点変異DNAを高感度に高選択的に識別するための新規な手法を開発し、DNA診断へのSPRの応用の可能性を示した。</p> <p>論文は、5章からなる。第1章はイントロダクションで、DNAの高感度検出法開発の意義、それを実現するための課題と手法、プローブとしてのDNAのデメリットとPNAのメリットについて述べ、本論文の目的と構成を示している。第2章には、SPRのセンサーチップ表面でのDNAのハイブリッド化についての研究結果が記載されている。著者は、ハイブリッド化実験に先立ち、センサーチップの表面層の構造、DNAあるいはPNAの固定法を詳細に検討した。次いで、プローブとしてのDNAとPNAの得失を、融解温度や結合定数の比較を通して検討し、点変異DNAの検出のためのプローブとしてPNAの方が適するとの結論を得た。ただし、SPRによるハイブリッド形成の検出感度は最適条件ですら実用レベルからは程遠い。</p> <p>第3章では、ハイブリッドの形成量の検出感度を高めないと点変異識別はできない。そこで、著者は、SPRによる検出感度を高めるために高分子微粒子を用いるサンドイッチ法を試行した。すなわち、プローブPNAにハイブリッド化したサンプルDNAの他端に注目し、それと相補的なDNAを固定した高分子粒子をセンサーチップ表面に流してハイブリッド化させた。このサンドイッチ法により検出感度は百倍増加した。このとき高分子粒子として親水性ソフト粒子と疎水性ハード粒子の2種類を用い、本系に適用するための粒子が備えるべき条件を示した。</p> <p>前章ではSPRによるハイブリッド検出感度を高められた。残された課題は、点変異識別能の向上である。第4章では、相補的DNAのハイブリッド化を高め mismatch DNAのハイブリッド化を抑え、両者の識別能を向上させる方法が提案されている。著者は、センサーセル中を流すメediumの流速を高め、 mismatch DNAに結合した粒子のほうが流速に負け脱離しやすいことを見出した。それにより、 mismatch鎖のハイブリッド化量/相補鎖のハイブリッド化量の比を0.1以下に抑えることに成功した。第5章は総括である。</p> <p>以上述べてきたように、著者は、SPRを用いて、点変異DNAを高感度、高選択的に検出するシステムを創出した。この成果は、著者の創意と研究能力に負うものであり、医工学の分野に大きく貢献する。</p>				

