

論文審査の結果の要旨

氏名 武田 佳宏

本論文は8章からなり、(株)コンポン研究所における研究の成果をまとめたものである。第1章は序文であり、レーザーや金微粒子を用いる生体高分子の分析法の問題点と本論文の意義が述べられている。

第2章ではレーザー共焦点蛍光顕微鏡による単一分子検出法のグリセロール気液界面における色素分子のダイナミクス研究への応用について述べられている。気液界面にあるR6G色素分子は凝集体を形成しており、その拡散係数は内部のR6G分子の拡散係数の15倍の大きさであることを明らかにしている。

第3章ではエントロピー生成マッピング法の提案とそれをDNAとDNA結合因子の相互作用検出に応用した例について述べられている。ヒストンタンパク質とDNAとが相互作用している領域では、ヒストンタンパク質がその周りにDNAをまきつけるので、引き伸ばされて揃っていたDNA塩基対面の向きがばらばらになり、DNAにインターカレートしたTOTO-1色素の蛍光強度の励起光偏光面角度依存性が消失したことを明らかにしている。

第4章では3次元DNAネットワークについて述べられている。蛍光顕微鏡用の2枚のカバーガラス間にTOTO-1色素分子をインターカレーションしたDNAの3次元DNAネットワーク構築している。倒立型レーザー蛍光顕微鏡の対物レンズの位置を変えながら、TOTO-1色素分子の蛍光像を観察し、3次元DNAネットワークを確認している。

第5章では金微粒子結合プローブDNAのハイブリダイゼーション反応に対する立体障害の効果について述べられている。プローブDNA IとIIは標的DNAの中心部位または端と塩基対を組むように設計し、DNA IとIIの付加した金微粒子、バルキープローブIとIIを作成している。バルキープローブIIのハイブリダイゼーション反応速度定数はバルキープローブIのそれの42倍大きい値となった。これはバルキープローブIの方がバルキープローブIIよりも標的DNAの立体障害が大きいためであることを明らかにしている。

第6章では金微粒子へのレーザー照射により生じるナノ反応場を用いたタンパク質の分解について述べられている。金微粒子、リゾチーム、BSAを混合した溶液のpHを変えてレーザー照射をおこなうと、pHを11.0にした場合は等電点の近いリゾチームが選択的に分解され、pHを4.9にした場合は、等電点の近いBSAが選択的に分解されることを明らかにしている。

第7章では金微粒金のレーザーアブレーションによる金属-DNA複合体の形成について述べられている。 λ DNA、金微粒子、塩化カルシウム、ヒドロキシメチルアミノメタンを

混合した溶液にパルスレーザーを照射している。レーザー照射後の可視紫外吸収スペクトルには新しく生成した配位複合体 (Au(III)(DNA-base)₂(amine)L) における $p \rightarrow d$ 電荷移動吸収が 360 nm 付近に観測されることを明らかにしている。

第 8 章では本研究のまとめと今後の研究の展望が述べられている。

以上のように、本論文は先ず、レーザー共焦点蛍光顕微鏡による単一分子検出法を用いて、グリセロール気液界面における色素のダイナミクスを測定している。グリセロールは水素結合のネットワークを形成し、大きな粘性を有する液体であるが、その気液界面での物理化学的性質はバルクの性質と大きく異なると考えられる。その特異な環境における色素の挙動を初めて検出した研究として意義深い。

また、伸長した DNA の塩基対面の方向を測定することにより、DNA と DNA 結合因子の相互作用を検出する新しい方法を提案しているが、これは、これにまでになかった新規な方法論である。さらに、これをガラス基板上に伸長固定化した特殊な条件下の DNA についてではあるが、この方法の応用可能性を示唆する結果を得ている。今後は、さらに一般的な条件下の DNA についてこの方法を適応する必要がある。

また、金微粒子の付加した嵩高いプローブをハイブリダイゼーションの反応に応用し、ハイブリダイゼーションの位置による反応速度定数の違いを大きくする方法を見出している。この方法を用いて、ハイブリダイゼーションの反応速度定数を測定することにより、逆にハイブリダイゼーションの位置を簡便に推定する方法へと発展すると考えられる。

さらに、金微粒子にレーザーを照射することに生じる高温高压のナノ反応場をタンパク質の選択的断片化法に初めて応用している。さらに、ナノ反応場中の金イオンと DNA との配位錯合体の形成反応を初めて見出している。

このように、生体高分子の分析法や反応に関する新しく重要な知見を得る事に成功している。よって、本論文が博士（理学）を授与するのにふさわしい研究であることを審査員は全員一致で認めた。