

## 審査の結果の要旨

氏名 国立浩

国立浩君提出の論文「Development of Turn-on Biomolecule Sensors Utilizing Exciton-controlled Hybridization-sensitive Fluorescent Oligonucleotide Probes (励起子制御された二重鎖形成感受性蛍光オリゴヌクレオチドプローブを用いたターンオン型生体分子センサーの開発)」は、5章から構成されており、種々の蛍光色素ホモダイマーを含むハイブリダイゼーション感受性励起子制御蛍光核酸プローブ (ECHO プローブ) の作成と、それらを用いた生体分子検出への応用について論じたものである。

第1章では、本論文の背景と概要について論述している。背景については2セクションに大きく分けられており、前半では、生体分析のためのバイオセンサー、特に核酸を基本構造にしたバイオセンサーについてのこれまでの研究について概述している。後半は、そのうちの一つである ECHO プローブの分子構造や蛍光発光メカニズム、生体分析に向けたその応用について解説している。最後に本論文の構成について述べている。

第2章では、バクテリア量の定量を可能にする蛍光検出系について述べている。RNA 骨格 ECHO プローブを初めて開発し、従来型の ECHO プローブと比較して同レベルの配列選択的な蛍光応答を観察した。また、種々の構造解析および蛍光解析を行い、RNA 骨格 ECHO プローブの蛍光発光が色素間の励起子相互作用によって制御されることを明らかにした。続いて、RNA 骨格 ECHO プローブを含むネオマイシン B アプタマーを作成し、適切なアプタマー配列を選択することによって、ネオマイシン B があるときには蛍光が弱く、ネオマイシン B が除去されると蛍光が強くなることを確認した。このネオマイシン B アプタマーと大腸菌リボソームがネオマイシン B を奪い合うことから、蛍光アプタマーから大腸菌リボソームへネオマイシン B が移動することによる蛍光回復の結果、固相発酵下での大腸菌の量を可視光蛍光によって定量することに成功した。

第3章では、アデノシン三リン酸 (ATP) 感受性蛍光核酸プローブについて述べている。RNA 骨格 ECHO プローブを含む ATP アプタマーを作成し、適切

なアダプター配列を選択することによって、ATPの有無に従い蛍光が点滅することを可能にした。ATPの存在下では、非存在下に比べて蛍光強度はおよそ3倍に達することを見いだした。また、このプローブが他のヌクレオチドUTP、GTP、CTP、ADP、AMPからATPを蛍光強度によって明確に区別できることを明らかにした。

第4章は、二光子励起核酸イメージングを可能にする一連の新規ECHOプローブの作成について述べている。ここでは、高いモル吸光係数を有するスチリルシアニンECHOプローブやイメージングに必要なオン・オフ率が最も大きいインドールシアニンECHOプローブを開発した。特に、インドールシアニンECHOプローブがこれまでに開発されてきたECHOプローブと比べて極めて高いRNA感受性を示すことを見いだした。これらの新規ECHOプローブを二光子励起RNAイメージングに応用し、生細胞中のmRNAを1030nmの励起波長での二光子励起によってイメージングすることを可能にした。

第5章では、本論文で示したプローブの特徴と有用性を示し、今後の展望を述べている。本研究では、新たに作成したECHOプローブが、従来手法をはるかに超える感度で種々の生体分子を検出しており、バイオセンサーとしての実应用的な応用を可能にした。また、将来展望として、分子プローブがさらに発展していく上で必要な分子デザインの提案をしている。

以上、本論文で研究された生体分子検出システムは、近年細胞生物学分野で重要になっている細胞分子機能の計測に大きく寄与する。よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。