

審査の結果の要旨

氏名 飯沼 良介

本論文は DNA Origami 技術を用いたエクソソームの捕捉システムの開発について述べられており、主要な 4 テーマを記述した章から構成されている。

第一章はエクソソームの諸特性と現行のエクソソーム単離方法に関する課題について述べた序章である。現在一般的に利用されているエクソソームの単離システムとしてフィルター法、抗体アフィニティ法が挙げられるがこれらの手法を用いた場合、得られるエクソソームの粒子径は幅広い分布となり粒子径の観点からは更なる分画性能の向上が望まれていた。本研究においてはこのような状況を鑑みてエクソソームを抗体によるアフィニティとサイズ特異的に分離する手法を考案している。エクソソームをサイズ特異的に捕捉する手段として、特定の大きさのエクソソームがはまり込む精密構造体を使用するというコンセプトであり、その具体的な手段として DNA Origami 技術を利用した設計を示している。

第二章においては具体的な構造体として DNA Origami Tripod 構造が示されており、Tripod の角度の制御手法と Tripod 上への抗体導入手法が述べられている。Tripod の角度は辺間に 2 本の二重鎖を導入する事により 60° - 120° に至る範囲で精密に制御することができる事が示されている。本手法は複雑なデザインを必要としない一方で角度制御性に関しては非常に高い信頼性を与えており今後の応用展開性という観点でも有用な技術と考えられる。またこの DNA Tripod の各辺上に抗体をビオチン、Streptavidin の結合を介して導入する手法を示しており更なるエクソソーム捕捉挙動を検討する上における基礎技術が確立されている。

第三章においては第二章において確立された DNA Tripod/抗体複合体を用いた具体的なエクソソームの捕捉挙動が記述されている。DNA Tripod / 抗 CD-9 抗体複合体によりその Tripod の辺間で挟み込むようにしてエクソソームが捕捉されている様子が透過型電子顕微鏡により確認されている。ここで DNA Tripod で捕捉されたエクソソームの粒子径分布は 30~60nm 程度に収まる結果である一方で、従前のフィルター法により単離されたエクソソームは 20~170nm に至る広い分布を持つことが明らかにされている。この結果より、本システムにより 1 ステップでサイズ特異的、かつ抗体とのアフィニティ特異的なエクソソーム捕捉システムが実現できることが示されている。

第四章においてはエクソソームより大きなサイズのターゲットを捕捉することを目的として DNA Origami 構造体同士の効率的な結合システムの開発について述べている。ここでは各種の角度を持つ DNA Tripod を接合させ多様な Polyhedra 構造体を構築している。この際、DNA Tripod 同士を接合するための新規のコネクターデザインを考案しており、このコネクターにより従来知られているコネクター使用時よりも高い収率で目的の

Polyhedra 構造体を構築することに成功している。本章で開発された新規コネクターは複雑なデザインを必要とせず非常に一般性の高い手法と考えられ **DNA Origami** 構造体同士の接合において大きな技術の進展を与えたと言える。なお第四章においては **Dr. Yonggang Ke, Dr. Ralf Jungmann, Johannes B. Woehrstein, Thomas Schlichthaerle, Dr. Pen Yin** との共同研究であるが論文提出者が主体となって研究デザイン、検証を行っている。

本研究は **DNA Origami** 技術を駆使しての独創的な研究デザインとなっており、仮説が精度の高い実験で裏付けられている。いずれの結果も **DNA Origami** 技術、エクソソーム分野において重要な知見を与えるものと考えられ、学位（医科学）を授与できると認める。

以上 1,602 字