

論文審査の結果の要旨

氏名 ト 同

本論文は5章からなり、1章では研究全体の概要、2章ではDNA担持金ナノ粒子を用いた高感度DNA検出法の開発について、3章では抗体担持金ナノ粒子によるタンパク質アミロイド凝集の高感度検出法の開発について述べている。4章では親水性ポリマーで修飾した磁性ナノ粒子を用いたアミロイド凝集の選択的分離法について記述している。最後に5章で研究全体を総括している。

2章では、一塩基多型(SNP)を有するDNAの高感度検出のために、金ナノ粒子の表面を一本鎖DNAで修飾し、完全相補鎖と一塩基変異鎖を高塩濃度下で添加したときに示すナノ粒子凝集の違いを詳細に調べた。とくに暗視野顕微鏡を利用し、金ナノ粒子凝集体をクラスター単位で輝度解析することで凝集体形成を検出できることを示し、凝集体のサイズや数を議論した。本手法によるDNAの検出限界(LOD)は100 fMであった。これまでに広く用いられてきた、金ナノ粒子溶液の色変化を目視や分光学的に検出する方法あるいは動的光散乱法を用いた凝集検出法におけるLODはそれぞれ約50 nMであり、これらと比較して本手法は非常に高感度なDNA検出法であることが分かった。さらに単一クラスター解析の利点を活かし、ナノ粒子凝集過程を議論した。これまで単量体粒子が凝集体クラスターに結合していくparticle-clusterモデルと、クラスター同士が結合するcluster-clusterモデルが提唱されていたが、単量体がなくなった後にも凝集体サイズの増加が観察されたことから、この過程においてはcluster-clusterモデルにより凝集体が形成していることが明らかとなった。

暗視野顕微鏡を用いたナノ粒子凝集観察を生体分子検出法に応用した例はこれまでに報告されておらず独創性がある。本手法はDNAのみならず様々な生体分子を高感度に検出できる方法として高いポテンシャルを有しており、本研究成果は原著論文として纏められている。

第3章では本手法をさらに発展させ、タンパク質アミロイド凝集検出への応用を述べている。アミロイドβ(Aβ)などのタンパク質凝集体(アミロイド凝集)はアルツハイマー病などの疾病の原因とされており、高感度検出が課題となっている。本論文では抗Aβ抗体を担持した金ナノ粒子が、アミロイド凝集体に結合することで形成するナノ粒子凝集体を暗視野顕微鏡で詳細に調べた。Aβアミロイド凝集体の添加に応じて増加するナノ粒子凝集を単一クラスター観察することで、アミロイド凝集を高感度(LOD 40 pM)に検出できることを示した。さらに近年、病因として注目されている高毒性のアミロイド凝集である可溶性オリゴマーに特異的な抗体を金ナノ粒子に結合することで、Aβオリ

ゴマーを高感度検出(LOD 7 pM)できることを示した。これらの結果は抗体で修飾したナノ粒子を用いることで、様々な対象分子が検出可能であることを示しており、本手法の汎用性を支持している。

第4章は磁性ナノ粒子によりタンパク質凝集体を分離・除去する手法について述べている。Co/C コアを有する磁性ナノ粒子を親水性カチオンポリマーである Poly[3-(methacryloyl amino) propyl] trimethylammonium chloride を表面修飾したナノ粒子(MC-NP)が A β アミロイド凝集体に結合することを見出し、相互作用を詳細に調べた。MC-NP は磁石による分離・回収が容易であるため、MC-NP による A β アミロイド凝集体分離が可能であることを示した。とくに、MC-NP は A β 単量体には結合せず、アミロイド凝集体に選択的に結合することを報告している。ポリマー修飾のみにより、粒子が病因因子であるアミロイド凝集への選択的結合能を有することを示した点で興味深い。

本論文では表面修飾により機能化したナノ粒子の生体分子検出・分離への応用について報告している。とくに、対象分子により引き起こされるナノ粒子凝集体形成を、暗視野顕微鏡を利用し単一クラスター解析することで様々な生体分子を高感度検出できることを示した。

本論文のうち第2章、第3章、第4章は(独)理化学研究所の座古保、前田瑞夫との共同研究であり、また第4章は ETH Zurich の Wendelin Stark 教授研究室との共同研究の内容を一部含むものであるが、論文提出者が主体となって実験遂行および分析を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(科学)の学位を授与できると認める。

以上 1870 字