

Title	プラズモニクナノダイマーを用いた転写制御因子によるDNA構造変化の解析
Author(s)	森村, 皓之
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34444
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (森村 皓之)

論文題名

プラズモニックナノダイマーを用いた転写制御因子によるDNA構造変化の解析

論文内容の要旨

本論文では、プラズモニックナノダイマーを用いた転写制御因子によるDNA構造変化計測法、およびDNA構造変化の実時間一分子計測法についてまとめた。

第1章では、金属の光学特性とそのサイズ依存性について述べた。そして、金属ナノ粒子の散乱理論および局在表面プラズモン共鳴(LSPR)について説明し、さらに二つの金属ナノ粒子がナノスケールで近接したペア構造(プラズモニックナノダイマー)の散乱理論および、LSPR波長のギャップ距離依存性について述べた。また、プラズモニックナノダイマーを用いたバイオセンサーの研究例を紹介した。

第2章では、DNAおよび転写について説明した。さらに、本研究で用いた転写制御因子(SOX2とPAX6)と、それら転写制御因子間の相互作用について述べた。また、転写制御因子によるDNA構造変化を計測する手法について紹介した。

第3章では、有限差分時間領域(FDTD)法について説明し、金属ナノ粒子の散乱スペクトルを数値解析する方法について説明した。また、FDTD法を用いてプラズモニックナノダイマーにおけるLSPR波長のギャップ距離依存性の数値解析を行った。さらに、DNA構造変化の計測へ向けて、金属ナノ粒子の直径およびDNA塩基数の最適化を行った。

第4章では、DNAを用いたプラズモニックナノダイマーの合成法について説明した。そして、暗視野照明法を用いた金属ナノ粒子の散乱スペクトル計測法について述べ、プラズモニックナノダイマーにけるLSPR波長のギャップ距離依存性を実験的に検証し、ギャップ間距離とLSPR波長の検量線を作成した。

第5章では、プラズモニックナノダイマーを用いて転写制御因子(SOX2およびPAX6)によるDNA構造変化を計測した。転写制御因子が一種類の場合(SOX2)と二種類の場合(SOX2+PAX6)のDNA構造変化を比較した。また、転写活性を示す塩基配列、または転写活性を示さない塩基配列を含むDNA上での構造変化を比較した。これらの実験結果を考察し、転写活性とDNA構造変化の関連性を示した。

第6章では、プラズモニックナノダイマーを用いた転写制御因子によるDNA構造変化の実時間一分子計測法について述べた。まず、一分子計測法および一分子トラッキング法について説明した。そして、プラズモニックナノダイマーを用いた一分子計測の実験系について説明し、転写制御因子(SOX2)によるDNA構造変化を実時間計測した結果についてまとめた。

統括では、本論文で得られた結果についてまとめ、本論文の結論および今後の展望について述べた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (森 村 皓 之)				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	教授	井上 康志	
	副 査	教授	民谷 栄一	
	副 査	教授	高原 淳一	
	副 査	教授	難波 啓一	(生命機能研究科)

論文審査の結果の要旨

金属ナノ粒子に光が入射すると、入射光の電場成分がナノ粒子内の自由電子を強制的に振動させる。光電場は特定の振動数において自由電子の集団振動を共鳴的に励振することができ、この現象を局在表面プラズモン共鳴(LSPR)と呼ぶ。LSPRの振動数(または波長)はナノ粒子のサイズや形状、材質に依存し、金属ナノ粒子のペア構造(プラズモニックナノダイマー)では、粒子間ギャップ距離が短くなるにつれて、LSPR波長は長波長側に移行する。

本学位申請論文は、このプラズモニックナノダイマーを用いたDNA結合タンパク質(転写制御因子)によるDNA構造変化を計測するための原理および方法に関する研究をまとめたものである。転写制御因子は、DNA内の特定の塩基配列上に結合することで、転写を制御している。なかでもSOX2と呼ばれる転写制御因子は、細胞の発生過程に広く関わっていることが知られている。しかしながら、SOX2単独では転写が活性化されず、転写が活性化するには、パートナー因子と呼ばれる別の転写制御因子がSOX2と複合体を形成する必要がある。PAX6と呼ばれる転写制御因子がパートナー因子として働く場合、SOX2-PAX6複合体は眼形成に関わる遺伝子の制御を司る。ところが、SOX2-PAX6複合体がDNA上に単に結合するだけでは転写は活性化されず、DNA上において転写制御因子間の相互作用が働いてはじめて転写が活性化されることが予想されている。転写制御因子間の相互作用がある場合、転写制御因子単独または複合体によるDNA構造変化では差異があると考えられることから、申請者はプラズモニックナノダイマーを用いてナノスケールでのDNAの構造変化を計測している。主な結果を以下に示す。

- SOX2とPAX6が特異的に結合する塩基配列(DC5)を含むDNAを用いて合成したプラズモニックナノダイマーがSOX2と反応した場合、LSPR波長は長波長側に現れる。この結果はDNA構造変化によるギャップ間距離減少を示している。
- SOX2とPAX6両方と反応したプラズモニックナノダイマーのLSPR波長はさらに長波長側に現れる。よって、この結果は、SOX2-PAX6複合体によるDNA構造変化が、SOX2単独に比べて大きい、ということを示している。
- DC5塩基配列を一部分変更したDNA(DC5-con)上では、SOX2とPAX6両方の転写制御因子が結合するが、転写は活性化されないことが知られている。DC5-con配列を用いた同様の実験によって、SOX2-PAX6複合体によるDNA構造変化はDC5配列上でのDNA構造変化に比べて小さいことを見いだしている。
- 実験結果からナノスケールでのDNA構造変化のモデルを示している。
- プラズモニックナノダイマーを用いて、SOX2によるDNA構造変化の実時間計測を行い、SOX2によるDNA構造変化の素過程を見出している。

以上のように本論文は、ナノフォトニクスおよびナノ計測工学といった応用物理学だけでなく、DNA構造変化と転写活性の関連性を示したことから、分子生物学に寄与するところも大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。