



Title	EXPERIMENTAL AND THEORETICAL STUDY ON NANOSCALE FLOW DYNAMICS OF DNA
Author(s)	上原, 聡司
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34536">https://hdl.handle.net/11094/34536</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 ( 上原 聡司 )	
論文題名	EXPERIMENTAL AND THEORETICAL STUDY ON NANOSCALE FLOW DYNAMICS OF DNA (ナノ微小空間におけるDNAの流動に関する研究)
論文内容の要旨	
<p>ナノ微小空間におけるDNA流動の本質的解明は、次世代DNAシークエンサーなどのナノバイオデバイス開発において非常に重要な意味を持つ。本論文では、ナノ流路およびナノスケール空間内に存在するDNAの流動現象について理論並びに実験の両面から明らかにした。</p> <p>まず、実験観察用の基本的なナノ構造体として、複数のMEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 加工技術を組み合わせ、独自の創意工夫と最適化によりナノスリット状の矩形直線流路を製作した。流路深さは、溶液中で糸まり状に凝集した<math>\lambda</math>DNAの代表長さである回転半径よりも浅い三種類を用意した。その流路内においてスリット上下壁の物理的拘束下にある<math>\lambda</math>DNAの電気泳動を蛍光可視化観察したところ、ナノ流路深さが浅くなるにつれ<math>\lambda</math>DNAの移動度は減少することが明らかになり、相似則を見いだすための系統的かつ定量的なデータ収集を行った。この結果に基づき、流路深さと印加電圧の変化が<math>\lambda</math>DNAの電気泳動速度に及ぼす影響を見積もるための簡易理論モデルの構築に成功した。</p> <p>次に、ナノスケールの間隙構造(ナノギャップ)を有するナノ流路内のDNA流動と電気的識別法について考察した。DNAがナノギャップを通過する際のイオン電流変化について、上述の理論モデルをさらに発展させて解析し、DNAの立体構造や流速を予測することに成功した。実験から得られる泳動方向のイオン電流波形と理論予測値との比較検討を行ったところ、両者は良い一致が見られ、ここで提示した理論モデルの妥当性が示された。</p> <p>最後に、より実用的な応用を考慮し、将来的なDNAシークエンサーで用いることが想定されるSingle-stranded DNA (ssDNA)の壁面近傍における挙動を全反射照明蛍光顕微鏡により観察した。観察対象には配列の異なる24塩基ssDNAを用いた。塩基配列は溶液中でssDNAが持つ高次構造の違いを考慮に入れ、三種類の異なる配列を独自に選定した。得られた結果から、本実験系において、ssDNAの挙動はバルク中と異なり壁面からの影響を強く受け、その拡散係数が小さくなることが分かった。さらに、塩基配列の違いに起因する溶液中での高次構造の違いから拡散係数が異なることが示唆された。本研究で得られた知見は、革新的なナノバイオデバイス開発において非常に有用なものである。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 上原 聡司 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	川野 聡恭
	副 査	教 授	河原 源太
	副 査	教 授	和田 成生

**論文審査の結果の要旨**

本論文は全五章から成り、第一章は緒言、第五章は結言であり、研究内容は第二～四章の三部構成である。第一章では、近年、ナノ構造流路を用いた生体デバイスに注目が集まっており、制限ナノ空間における生体高分子の挙動を解明することの重要性が述べられている。第二章では、まず、基本的な実験観察用の制限ナノ空間として、DNAの電気泳動を系統的に計測するためのスリット状ナノ流路の試作を行っている。DNA一分子を対象としてその拘束流動現象を観察するためには、流路深さをDNAの代表長さ以下にする必要があるが、本論文ではMEMS加工技術を応用し独自に組み合わせることで、330 nm、430 nmおよび650 nmの深さを持つ三種類のナノ流路の製作に成功している。深さの異なるナノ流路内でのDNAの電気泳動を蛍光可視化観察し、ナノ流路の拘束による流動性の違いを系統的に計測している。また独自に構築した理論モデルにおいて実験結果が精度よく再現されており、理論で導入された溶媒透過率を表す変数 $C$ が一定値を取ることはDNAの凝集状態が一定であることと対応しており、物理的にも妥当であるため、当モデルはDNAの電気泳動速度を見積もることのできる有用なものであると言える。第三章では第二章で構築したモデルをさらに発展させ、より実用的な系であるナノギャップ間のDNA通過に対して応用することに成功している。DNAがナノギャップ間を通過する際の形状変化を考慮した結果、見積もられるDNAの通過時間は実験と良い一致を見ている。また、ナノギャップを通過するイオン電流変化の簡易モデルによるアプローチは、そのDNAおよび溶媒イオン流動メカニズムの解明につながる有益なものであると言える。また、第四章では、可視化が困難である一本鎖DNAの拡散挙動の全反射照明蛍光顕微鏡による観察に取り組んでいる。塩基配列の差により溶媒中での高次構造が変化するため、拡散係数が異なることを示唆している。第五章には以上の総括と今後の研究課題がまとめられており、本論文の学術的寄与は、ナノ制限空間におけるDNAの挙動について理論並びに実験の両面から解明し、バルク中とは異なる新たな分子流動機構を見いだしたことにある。したがって、本論文は、審査の結果、博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。