

Title	超高速光架橋反応を用いたDNAナノ工学
Author(s)	中村, 重孝
Citation	
Issue Date	2015-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/12775
Rights	
Description	Supervisor: 藤本 健造, マテリアルサイエンス研究科, 博士

氏名	中村重孝		
学位の種類	博士(マテリアルサイエンス)		
学位記番号	博材第372号		
学位授与年月日	平成27年3月20日		
論文題目	Development of DNA nanoengineering based on ultrafast DNA photocrosslinking (超高速光架橋反応を用いた DNA ナノ工学)		
論文審査委員	主査	藤本 健造	北陸先端科学技術大学院大学 教授
		高木 昌宏	同 教授
		金子 達雄	同 准教授
		平塚 祐一	同 准教授
		井原 敏博	熊本大学 教授

論文の内容の要旨

3-cyanovinylcarbazole nucleotide (^{CNV}K) has high photoresponsive ability, whereby the ODN containing ^{CNV}K is photocrosslinked to complementary DNA with 366 nm for a few seconds. I focused on a change of structure, creation of a covalent bond following [2+2] photocyclization using ^{CNV}K, and it has high photoresponsive ability; these characteristics were adapted to DNA nanotechnology to create an application that has a function unrealizable only with a native base.

In chapter 1, I demonstrated the photopolymerization of ODNs using ^{CNV}K mediated DNA photocrosslinking. A stable DNA photopolymer was successfully created from short ODNs rapidly by irradiation at 366 nm, and its photopolymer was degraded to start short ODNs with a 312 nm irradiation. And, this photopolymerization can create a DNA-RNA hetero polymer incorporating miRNA in a sequence specific manner.

In chapter 2, I tried to create a DNA array structure equipped with heat resistance focused on the creation of a covalent bond using the photocrosslinking reaction with ^{CNV}K. The simple DNA array became a very stable structure which is not broken under conditions of heating and denaturing by photocrosslinking. Moreover, the inserting position and number of ^{CNV}K allow regulation of the size and conformation of the DNA array.

In chapter 3, I demonstrated the chemical shift imaging of nucleic acids using DNA photocrosslinking of ^{CNV}K. The 19F MR signal was shifted -63.2 to -71.2 ppm by the change of spatial proximity and electronic state in trifluoromethyl group using DNA photocrosslinking with ^{CNV}K. And, it was successful the detection of 10 nM miRNA using 19F chemical shift imaging mediated HCR in sequence specific manner.

In chapter 4, I demonstrated the feasibility of acceleration of DNA strand displacement by ultrafast DNA

photocrosslinking with ^{CNV}K. The DNA strand displacement was accelerated by DNA photocrosslinking. The inserting position of ^{CNV}K greatly affected the acceleration effect about DNA strand displacement rate, which a maximum of 29-fold as acceleration acquired in inserting ^{CNV}K into center-position.

In chapter 5, I try to the photosplitting using branch migration with a 366 nm irradiation without heating. The sequence specific photosplitting using branch migration was advanced at room temperature without heating with a 366 nm photoirradiation.

In chapter 6, I demonstrated template directed reversible photochemical ligation of ODNs using carboxyvinylcarbazole (^{CV}U). The template directed photochemical ligation of ^{CV}U advances with a 366 nm irradiation for 900s with high efficiency, and this photochemical ligation did not advance without a template and a change of alignment sequence by the sequence of the template. Moreover I create a photoligated self-assembled DNA structure.

Keyword : 3-cyanovinylcarbazole nucleotide, DNA photocrosslinking, [2+2] photocyclization, DNA nanotechnology.

論文審査の結果の要旨

本論文は超高速な光架橋素子である 3-cyanovinylcarbazole(^{CNV}K)により初めて実現可能となる機能の付与や核酸類の操作法に関する研究についてまとめたものであった。今後の DNA ロボット実現へ向けた要素技術開発として以下の点で非常に有用かつ独創的な内容であった。

DNA ロボットの構成要素としてセンサー、プロセッサ、アクチュエータ、コンパートメントという4つの要素が考えられている。本論文内において、センサー要素開発として 19F-MR シグナルのケミカルシフトを用いた miRNA の配列選択的な検出に成功した。光架橋前後において 5-trifluorothymidine(^{TF}T)由来のフッ素シグナルを-63.2 から-71.2 ppm へと大きく変化することを見出した。本手法を用い、増幅系として HCR を組み込むことにより、10 nM の miRNA を配列選択的に検出することに成功しており、核酸類の配列選択的なセンサーと位置づけることができる。

プロセッサ要素開発として光架橋反応による DNA 鎖交換反応の高速化に成功した。DNA 論理回路の基礎となる反応である DNA 鎖交換反応は論理回路の大規模化に伴い高速化が求められている。そこで、光架橋反応を利用することによって DNA 鎖交換反応が加速することを見出した。DNA 鎖交換反応の光照射エネルギーによる加速効果の制御の可能性も示唆された。また、DNA 鎖交換反応の加速率には架橋速度が重要であることが明らかとなり、高い光反応性を有する ^{CNV}K を利用することによって初めて実現できたと考えられる。

アクチュエータ要素開発として、DNA 鎖交換反応を用いた配列選択的な光開裂法を開発した。加熱を必要とせず、366 nm で光開裂可能な本手法を用いることによって、光照射と入力鎖があったときのみ出力鎖が放出される系の構築が可能となった。

最後にコンパートメント要素開発としてオリゴ核酸の高速光重合と、DNA ナノ構造体への耐熱性の付与に成功した。^{CNV}K を含む ODN を 2 秒程度の光照射によって重合させることによ

て、安定な長い二本鎖 DNA を作製できることを見出した。また、本手法を DNA ナノ構造に適用した際には、ナノ構造体内の DNA 鎖間を光架橋することで高温(80°C)でも壊れない耐熱性を付与することに成功した。それに加えて、光架橋された DNA ナノ構造体は急激な温度変化に対してもその構造を元に戻せることが示唆された。高い安定性を持つ DNA ナノ構造を作製する有用な手法だと位置づけることができる。

以上、本論文は、超高速光架橋素子による新たな機能の付与や核酸類の操作法に関するものであり、極めて有用かつ独創的なものであり、学術的、産業的、そして DNA ロボット作製へ向けた要素技術の開発に貢献するところが大きい。よって博士(マテリアルサイエンス)の学位論文として十分価値あるものと認めた。