

(第6号様式)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	武藤 悠
審査委員	主査 座古 保 副査 島崎 洋次 副査 小川 敦司

論文名 金ナノ粒子の光学特性を利用するセンサーシステムの構築

審査結果の要旨

本論文は5章からなり、1章では研究全体の概要、2章ではサンドイッチ型分子認識によるシグナル増幅型金ナノ粒子トロンビンセンサーの開発について、3章では指数関数的シグナル増幅を用いる金ナノ粒子トロンビンセンサーの開発について述べている。4章では、金ナノ粒子の光散乱の光学特性に着目し、暗視野顕微鏡による1粒子観察を利用するデジタルイムノアッセイの開発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。

第1章では、金ナノ粒子の光学特性と、これまでに開発されたシグナル増幅型の金ナノ粒子センサーに関して具体的な例を挙げながら述べ、本研究の背景と目的を明確化している。

第2章では、サンドイッチ型の分子認識によるシグナル増幅型金ナノ粒子カロリメトリックセンサーを開発するため、2つのDNAプローブを利用するセンサーシステムを設計している。モデルターゲットとしてはトロンビンを用いている。サンドイッチ型のターゲット認識をトリガーとするプローブ間の二重鎖形成に続くDNA伸長反応によりRNAプロモーター二重鎖を形成させることで、RNAポリメラーゼによる繰り返しのRNA合成を行った。得られた一本鎖RNAをシグナルとして、金ナノ粒子の分散または凝集へ変換することで、色調変化型のセンサーを構築した。これまでのシグナル増幅機構を有する金ナノ粒子カロリメトリックセンサーは、主にリガンドとしてアプタマーを用いて、ターゲット分子との相互作用によるアプタマーの構造変化を利用する機構であった。本研究において、設計したセンサーシステムの妥当性が示されたことから、リガンドの構造変化を必要としない新たなシグナル増幅型金ナノ粒子カロリメトリックセンサーの可能性が示された。本手法はリガンドの構造変化を必要としないため、抗体やレクチンなどを用いたバイオアッセイにも適応可能である。

第3章では、第2章で構築したセンサーシステムの測定感度を向上させるために、transcription-reverse transcription concerted reaction (TRC 反応) を利用した指数関数的なシグナル増幅方法を応用している。TRC 反応は一本鎖 RNA を鋳型として、転写反応と逆転写反応の協奏的な反応によって、一定温度条件下で RNA を指数関数的に増幅することが可能である。TRC 様の反応を組み込んだ金ナノ粒子カロリメトリックセンサーを構築することで、10 倍以上の高感度化が達成された。

第4章では、金ナノ粒子の光散乱特性に着目し、暗視野顕微鏡を用いたデジタル免疫アッセイに関する検討を行っている。従来のデジタル免疫アッセイでは、捕捉抗体と標識抗体の2つの抗体で抗原をサンドイッチする必要があるため、競合法で測定されるような低分子抗原に対しては適応が難しかった。本研究では、低分子抗原と抗体の複合体(免疫複合体)を特異的に認識する、抗免疫複合体抗体を用いて、暗視野デジタル免疫アッセイを構築することで、通常競合法により測定される低分子まで測定対象を拡大した。構築した低分子に対する暗視野デジタル免疫アッセイは、ELISA ベースの測定法と比較して高感度化が可能であることを報告しており、低分子抗原に対するデジタル免疫アッセイ適応の可能性を示している。

本論文では表面修飾により機能化した金ナノ粒子の光学特性を利用するセンサー機構について報告している。ナノ粒子の分散、凝集による色調の変化、または暗視野顕微鏡を用いる1粒子観察を利用して、新たなバイオアッセイ方法への展開を示した。金ナノ粒子を用いるセンサーは、バイオ分析に有用であり、学術的に意義のある研究テーマである。これらの研究により得られた知見は、新たなバイオ分析分野を切り拓く成果であると判断される。提出された学位論文に関連する成果は、国際学術誌に2編、国内学術誌に1編発表している。

公聴会は令和4年2月9日に開催され、約50分の論文発表と約30分の質疑応答が行われた。武藤悠氏は質問の意図を理解し、適切な応答を行った。本研究は新たなアッセイシステムを設計し、測定可能な対象分子を拡大した点で、新規性・独創性などにおいて、適切に研究がなされていることを確認した。また、設計したアッセイシステムに対して十分な結果や成果が得られており、それに基づいた適切な議論や考察がなされていること、本論文が研究倫理と化学分野が定める要請に則り、適切な形式・構成で記述されていることを確認した。

審査委員は、武藤悠氏が本論文関連領域に対して学位授与に値する十分な見識と能力と科学と科学技術の最先端を切り拓くことができる資質を有することを全員一致で確認し、博士(理学)の学位授与に値すると判定した。