

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	DNA複合化分子認識材料の開発
Title(English)	
著者(和文)	菅原勇貴
Author(English)	Yuuki Sugawara
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9527号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種類:課程博士, 審査員:山口 猛央,小島 英理,西山 伸宏,上田 宏,田巻 孝敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9527号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	化学環境学	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学)
学生氏名： Student's Name	菅原 勇貴		指導教員 (主)： 山口 猛央
			指導教員 (副)：
			Academic Advisor(sub)

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は、「DNA 複合化分子認識材料の開発」と題し、汎用性を持つ簡便な分子認識材料の開発を目指し、DNA の状態変化により制御される感温性ポリマーの凝集現象の解明および分子認識機能を有する分子認識ゲート膜の開発を行った内容であり、7 章より構成されている。

第 1 章の「緒論」では、既存の刺激応答性材料・分子認識材料の研究を概観し、解決すべき課題を示した。また生体分子である DNA の特異的な性質を利用したポリマーの形態制御に関する既往の研究を挙げ、その上で、DNA をセンサー部位としポリマーをアクチュエーター部位とした汎用性の高い分子認識材料のコンセプトを示した。

第 2 章の「DNA 固定化ポリマーの荷電支配の凝集現象」では、DNA が感温性ポリマーである PNIPAM に共有結合的に固定された DNA 固定化 PNIPAM を合成し、溶液中のリニアポリマーの系で凝集挙動を観察した。DNA が 1 本鎖 DNA の場合と 2 本鎖 DNA の場合で比較した結果、1 本鎖 DNA 固定化 PNIPAM に比べ 2 本鎖 DNA 固定化 PNIPAM はより凝集が抑制されたことを観察した。また分光学的調査により、DNA 固定化 PNIPAM の凝集現象は DNA の持つ荷電同士の静電反発により制御されていることを証明した。

第 3 章の「DNA 固定化ポリマーの 2 つの凝集現象の解明と系統的整理」では、DNA 固定化 PNIPAM の凝集現象の解明を目的とし、DNA の荷電と自由度に支配される 2 つの真逆の凝集現象を決定する要因を明らかにし、2 つの凝集現象を任意に切り替えることを試みた。凝集挙動の系統的な調査の結果、DNA 固定化 PNIPAM は 4 つの異なる凝集現象を持ち、荷電支配の凝集現象と自由度支配の凝集現象は溶液中の塩濃度と DNA 固定率によって制御可能であることを明らかにした。したがって、1 本鎖 DNA の場合に凝集する現象と 2 本鎖 DNA の場合に凝集する現象の選択的な発現が可能になり、DNA とポリマーから成る複合化材料の開発のための重要な設計指針が得られた。

第 4 章の「DNA 固定化ポリマーの凝集現象を利用した標的分子認識」では、DNA の分子認識に起因する DNA 固定化ポリマーの凝集挙動の変化を用いた分子の検出を試みた。認識させる分子として色素化合物を用いた場合、DNA が色素化合物と結合することで DNA 固定化 PNIPAM の凝集現象を荷電支配から自由度支配に切り替わることを示した。また、DNA アプタマーから成る 2 本鎖 DNA 固定化 PNIPAM に特異的標的分子である トロンビン を加えると、DNA アプタマーの トロンビン 認識により 2 本鎖 DNA が解離し PNIPAM はより凝集することを示した。よって分子認識により凝集挙動が変化する特性により、DNA 固定化 PNIPAM を目的分子の検出に応用可能であることを実証した。

第 5 章の「DNA 固定化ゲート膜の開発」では、DNA 固定化 PNIPAM をグラフトポリマーに持つ分子認識ゲート膜の開発を行った。その中で、適切なポリマー重合条件と DNA 固定化条件の探索により膜の作製に成功した。作製した膜の透過実験により、1 本鎖 DNA 固定化ゲート膜と 2 本鎖 DNA 固定化ゲート膜の水透過性が異なることを観察し、リニアポリマーとの系と同様に膜のグラフトポリマーの系でも DNA の荷電によりポリマーの形態を制御することが可能であると明らかにした。

第 6 章の「DNA 固定化ゲート膜の特異的分子認識特性」では、開発した DNA 固定化分子認識ゲート膜において特異的タンパク質の検出を行った。DNA アプタマーを持つ 2 本鎖 DNA 固定化ゲート膜は、トロンビンの添加により 2 本鎖 DNA が解離することで膜の透過性が減少し トロンビンの検出が行えた。さらに トロンビン 認識による 2 本鎖 DNA の解離と 2 本鎖 DNA の再生による連続的な透過性の切り替えが行える可能性が確認された。以上のことから、汎用性の高い簡便な刺激応答性材料のコンセプトを実証した。

第 7 章の「総括及び今後の展望」では、本論文の成果を総括し、今後の展望を述べた。以上、本論文は、DNA と感温性ポリマーの複合化材料において、DNA の状態変化によりリニアな感温性ポリマーの形態を制御することに成功し、DNA 固定化ポリマーの見せる現象の解明および DNA の分子認識に起因するポリマーの形態変化による分子の検出に成功した。さらに DNA 固定化ポリマーを分子認識ゲート膜に展開し、標的分子のシグナルを膜の透過性に変換できる材料の開発に成功した。当 DNA 複合化分子認識材料は目的分子に対する汎用性を持つ簡便なセンサー材料として応用が可能であり、工学上貢献するところが大きいと言える。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： 化学環境学 専攻  
Department of  
学生氏名： 菅原 勇貴  
Student's Name

申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学)  
Academic Degree Requested Doctor of  
指導教員 (主)： 山口 猛央  
Academic Advisor(main)  
指導教員 (副)：  
Academic Advisor(sub)

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

This study has developed a novel molecular recognition material composed of a thermoresponsive polymer and conjugated DNA which senses target molecular signals.

We synthesized DNA-conjugated thermoresponsive polymer (DNA-PNIPAM) and characterized the aggregation of the linear polymer in solution. We observed that single stranded DNA (ssDNA)-PNIPAM was more aggregated than double stranded (dsDNA)-PNIPAM. Spectroscopic examination represented that the variation of DNA-PNIPAM aggregation was driven by DNA electric charges. Thus, We have found the novel aggregation phenomena of DNA-PNIPAM controlled by DNA charges.

In addition, we have achieved the selective switch of two opposite aggregation phenomena. One phenomenon is driven by DNA charges, and ssDNA-PNIPAM is more aggregated. The other phenomenon is driven by DNA conformational restriction, and dsDNA-PNIPAM is more aggregated. The two phenomena can be switched by controlling the conditions of salt concentration in solution and DNA fraction in the polymer chain.

Furthermore, we have succeeded in molecular recognition using the aggregation phenomena of the DNA-PNIPAM. When DNA dyes were added to dsDNA-PNIPAM, the aggregation phenomena were switched from one driven by DNA charges to the other one driven by conformational restriction. Furthermore, when dsDNA-PNIPAM consisting of DNA aptamer and a specific protein, thrombin, were mixed, dsDNA was dissociated and ssDNA-PNIPAM was formed, followed by increase in the aggregation of DNA-PNIPAM. Therefore, we have proved the potential application of DNA-PNIPAM as sensing tools with versatility.

Moreover, we have fabricated a functional membrane as a useful responding material consisting of the DNA-PNIPAM as grafted polymer in its pore. We demonstrated that the membrane can change the permeability by transformation between ssDNA and dsDNA due to conformational change of the grafted DNA-PNIPAM by DNA charges. In addition, we have succeeded the thrombin recognition using the membrane and DNA aptamer on the basis of aggregation phenomena of DNA-PNIPAM.

This study developed molecular recognition material which can convert target recognition of DNA to membrane permeability, and the molecular recognition material can be applied to simple and versatile sensing methods for target molecules.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).