

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	DNA 液滴の自己複製機能を構成する時間制御された分裂機能と増幅機能の構築
Title(English)	Construction of timing-controlled division and amplification functions for self-replication of DNA droplets
著者(和文)	丸山智也
Author(English)	Tomoya Maruyama
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第240号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:瀧ノ上 正浩,山村 雅幸,上野 隆史,松浦 友亮,藤枝 俊宣
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第240号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名		丸山 智也	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	瀧ノ上 正浩	教授	審査員	藤枝 俊宣	教授
	審査員	山村 雅幸	教授			
		上野 隆史	教授			
		松浦 友亮	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「DNA液滴の自己複製機能を構成する時間制御された分裂機能と増幅機能の構築(英題: Construction of timing-controlled division and amplification functions for self-replication of DNA droplets)」と題し、6章より構成されている。

第1章「全体背景」では、本研究の背景と目的について述べている。まず、合成生物学分野では人工細胞の構築を通して生命システムの理解を試みる研究が行われており、複数ある人工細胞の中でも、性質のよく知られた生体分子によって構築され膜を持たないボトムアップ人工細胞は外部との物質のやり取りなどが容易であるという利点から広く利用されていることを述べている。さらに、生命の本質であり、成長とタイミング制御された分裂によって実現される自己複製機能を人工細胞で実現することが重要であるが未だ困難であることを述べている。また、DNAナノ構造体の自己集合によって形成される「DNA液滴」はDNAの配列特異性を利用して簡単にダイナミクスを起こし、その利点により自己複製可能な膜なし人工細胞として有用であると述べている。さらに、本論文ではDNA液滴の自己複製機能実現を目指し、DNA液滴の時間制御された分裂機構の構築と、成長のために必要なDNAナノ構造体増幅機構の構築を行ったことを述べ、本論文の構成に関して述べている。

第2章「DNA液滴の時間的な分裂制御機構の構築」では、DNA液滴分裂のタイミング制御機構および多段階分裂における分裂経路制御機構の構築に関して述べている。まず、お互いに結合しない2種類のY字型DNAナノ構造体(YA, YB)と、両方の粘着末端を持ちYAおよびYBを架橋するリンカーDNAナノ構造体によって形成される融合DNA液滴に対し、1本鎖DNAである分裂トリガーを利用してリンカーを切断することで融合DNA液滴がYA由来のDNA液滴(A液滴)とYB由来のDNA液滴(B液滴)に分裂したことを報告している。さらに、(i)分裂トリガー(1本鎖DNA)と阻害RNA(1本鎖RNA)の結合による不活性トリガー(RNA/DNAハイブリッド)の形成、(ii)リボヌクレアーゼH (RNase H)が起こす阻害RNAの分解による、不活性トリガーから分裂トリガーの生成の2つの反応によって構築される「時間遅れ回路」を用いて分裂トリガーの生成速度を制御し、DNA液滴の分裂のタイミングを制御したことを報告している。次に、3種類のY字型DNAナノ構造体(YA, YB, YC)と、2種類のリンカー(YAとYBを架橋するLAB, YAとYCを架橋するLAC)によって形成される融合DNA液滴に対して時間遅れ回路を利用し、リンカーの切断の順番を切り替えることで、先にLACが切断されてC液滴が初めに分裂される分裂経路1、先にLABが切断されてB液滴が初めに分裂される分裂経路2をそれぞれ実現し、多段階分裂における分裂経路を制御したことを述べている。

第3章「DNA液滴の分裂経路制御を用いたmiRNAを入力とする分子コンピュータ素子の構築」では、第2章で構築した分裂経路制御機構を利用した分子コンピュータの構築に関して述べている。LABおよびLACのそれぞれに用いた阻害RNA濃度の大小によって分裂経路が切り替わることを利用し、分裂経路の確認によって阻害RNAとして用いた乳がんのバイオマーカーであるマイクロRNA(miRNA)の濃度を比較する分子コンパレータの構築を報告している。

第4章「時間遅れ回路を用いた多段階ダイナミクスによるDNA液滴の細胞様分裂の実現」では、1つの液滴が二相分離状態を介して2つの液滴に分裂する現象(細胞様分裂)に関して述べている。時間遅れ回路を利用して融合DNA液滴に含まれる2種類のリンカーの切断を段階的に行い、(i)最初のリンカー切断による二相分離液滴の形成、(ii)次のリンカー切断による完全な分裂という多段階ダイナミクスを起こし、細胞様分裂を実現したことについて述べている。

第5章「DNA液滴成長のためのDNAナノ構造体増幅機構の構築」では、DNA液滴成長に必要なDNAナノ構造体の増幅機構の構築について述べている。まず、DNA増幅反応と組み合わせることが可能な新規DNAナノ構造体の設計を行い、それらがDNA増幅反応の至適温度でDNA液滴を安定的に形成することを述べている。さらに、新規DNAナノ構造体を構成する1本鎖DNAをテンプレートとしたヘリカーゼ依存等温DNA増幅反応を行い、相補鎖の増幅および相補鎖DNAによるDNAナノ構造体の形成により、増幅機構の構築を実現したことを報告している。

第6章「まとめと総合討論」では、第2~5章までの結果を踏まえて、DNA液滴の自己複製機能実現のために残された課題と今後の展望に関して述べている。まず、生細胞の自己複製機能と比較しながら、自己複製サイクルなどの残された課題について論じ、さらにそれらを実現するためには、持続的なダイナミクスを起こすための非平衡性をDNA液滴に実装することが将来的に重要になることを論じている。

以上を要するに、本論文はDNA液滴ベース人工細胞の時間的に制御された分裂機構とDNAナノ構造体の増幅機構とといった新たな手法を構築し、人工細胞構築において重要な自己複製機能実現のための技術を大きく発展させ、生細胞の複雑な機能や初期生命における重要な現象の解明に繋がることから、理学的に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東京科学大学リサーチプロジェクト(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。