

## 学位論文の審査要旨

学位論文申請者氏名： Jakir Ahmed Chowdhury

論文題目： Development of New Fluorogenic OligoDNA Probes Utilizing  
Silylated Fluorescent Material

(シリル化された蛍光物質を用いた新規な蛍光発光性オリゴ DNA プローブの開発)

### 論文の概要及び判定理由

近年益々盛んとなっている遺伝子診断の容易化、迅速化、正確化のために、特定遺伝子、或いはその断片を簡便に検出するプローブの開発に注目が集まっている。従来は放射性同位元素、あるいは単純な蛍光剤で標識化された核酸プローブを用い、ゲル電気泳動などで標的遺伝子との相補的二重鎖形成を確認する手法が用いられてきた。しかし最近では検出の容易化、迅速化の観点から、標的鎖との二重鎖形成に伴うプローブ中の蛍光変化を指標にする新たなプローブの開発が盛んとなっている。

申請者は、一部自己相補的な配列を有するオリゴ DNA の 5' 末端に、リン酸ジエステル結合を介してシリル化されたピレン残基を結合した、新規なモレキュラー・ビーコン型蛍光 DNA プローブを合成し、その蛍光特性について研究した。申請者は、本研究で開発したモレキュラービーコン型プローブ(MB プローブ)が、緩衝液中で両末端にそれぞれ 15 塩基と 3 塩基からなるループ部分と、それらを結ぶ、4~5 塩基対からなる自己相補部分から形成される非常に短いステム部分を併せ持つ、特徴的な Pseudo-Dumbbell 型高次構造を形成することを明らかにした。さらにこのような高次構造形成時には、5' 末端のシリル化ピレン残基が 3' 末端のデオキシチジン(dC)残基と近接してその消光作用を受け、蛍光シグナルが強く消光される事を見いだした。これに対して 15 塩基から成るループ部分に相補的なオリゴ核酸存在時には、これとの二重鎖及び Pseudo-Dumbbell 構造の解消が起き、その結果 5' 末端のピレン残基が 3' 末端の dC 残基から離れ、ピレンの蛍光強度が 20 倍程度に増強する事が確認された。また、このようなプローブは 1 塩基変異を持つ標的鎖の存在下では、完全に相補的な配列を持つ標的鎖に比べてピレンの蛍光強度が低下することから、遺伝子中の一塩基変異検出プローブとしても有用性を持つ事を見いだした。引き続き研究によって、このような性質は Pseudo-Dumbbell 構造中のステム部分に、消光作用を持つアントラキノン分子を結合させたデオキシウリジン残基を導入する事でさらに増強されることも見だし、このようなプローブではループ部分に相補的な遺伝子断片存在時には、非存在時に比べて約 60 倍の蛍光増強が見られる事も確認した。

以上の研究により、申請者は特異な高次構造を形成する新規なモレキュラービーコン型プローブの作成に成功すると共に、水溶液中での単純な混合によって、蛍光シグナルの増大を通じて特定遺伝子断片の検出に応用できる実用性の高い蛍光 DNA プローブの開発に成功する等十分な研究業績を納めたことから、博士(工学)の学位に値するものと判定した。

審査年月日 平成 27 年 2 月 7 日

審査委員

主査	群馬大学学術研究院	教授	角田欣一	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	飛田成史	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	松尾一郎	印
副査	群馬大学学術研究院	准教授	武田亘弘	印
副査	群馬大学学術研究院	教授	篠塚和夫	印

関連論文

1 著者名 Jakir Ahmed Chowdhury, Tomohisa Moriguchi, Kazuo Shinozuka  
論文題目 Pseudo-Dumbbell Type of Molecular Beacon Probe bearing Modified Deoxyuridine and a Silylated Pyrene as a Fluorophore.  
(修飾デオキシウリジン残基及び蛍光団としてシリル化されたピレンを持つ Pseudo-Dumbbell 型モレキュラービーコンプローブ)  
雑誌名 *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 掲載決定

2 著者名 Jakir Ahmed Chowdhury, Tomohisa Moriguchi, Kazuo Shinozuka  
論文題目 Development of Novel Stem-Loop Type Molecular Beacon Probe Possessing Polyamine-connected Deoxyuridine and Silylated Pyrene.  
(ポリアミンを結合したデオキシウリジン残基及びシリル化されたピレンを持つ新規なステム・ループ型モレキュラービーコンプローブの開発)  
雑誌名 *Chemistry Letters* 第 43 巻 第 12 号 1915 頁～1917 頁 2014 年 12 月