

豊橋技術科学大学長 殿

平成 20 年 2 月 28 日

審査委員長 菊池 洋



論文審査及び最終試験の結果報告書

このことについて、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	栗田 弘史	学籍番号	第 0 1 3 8 1 0 号
申請学位	博士(工学)	専攻名	環境・生命工学専攻
論文題目	1分子DNA操作技術を用いたDNA-タンパク質間相互作用の解析		
公開審査会の日	平成 20 年 2 月 21 日		
論文審査の期間	平成 20 年 1 月 23 日～平成 20 年 2 月 28 日	論文審査の結果	合格
最終試験の日	平成 20 年 2 月 21 日	最終試験の結果	合格
論文内容の要旨	<p>本研究は1分子DNAの物理的操作技術を用いたDNA-タンパク質相互作用の解析に関するものであり、本論文は6章から構成されている。第1章は序論であり、本研究の背景および目的について述べている。第2章ではDNA-タンパク質間相互作用の1分子解析手法の開発と観察条件の最適化についての成果を記述している。第3章ではDNA1分子操作・反応制御技術をDNA消化酵素 exonucleaseIII との反応解析に適用した結果について述べている。DNA1分子を蛍光染色して光学顕微鏡で可視化した後、光ピンセットにより微細流路中で伸張固定して、DNA消化酵素と反応させ、酵素がDNA分子を消化していく挙動を観察した。反応解析条件を改善したことで、DNA1分子の反応を明瞭に観察でき、分子同士の反応の詳細な解析を可能にした。第4章では、DNAの形態が exonucleaseIII 反応に与える影響について1分子観察に基づいて検討した結果、伸張させた状態のDNAの消化速度は弛緩させた状態よりも速いことなどの実験事実を報告している。第5章では1本鎖DNA結合タンパク質の蛍光標識およびDNA-タンパク質間相互作用の1分子イメージング方法の開発と観察結果について述べている。第6章では本研究の総括を行い、1分子反応解析に関する今後の展望を記述している。</p>		
審査結果の要旨	<p>本論文は生化学反応が起きているその場で、しかもリアルタイムで観察できる1分子観察・1分子計測技術をDNA-タンパク質間相互作用に適用した研究の成果である。まずDNA消化酵素 exonucleaseIII が1分子のDNAを消化していく様子を直接観察できる実験系を作り、観察条件を最適化して明瞭な解析を可能とした。この1分子反応解析法ではDNA分子を伸張あるいは弛緩させるなど、形態を制御しつつ反応を解析できる利点を生かし、DNAの形態がDNA消化反応速度に及ぼす影響を実験的に明らかにした。その結果、DNAを伸張させた場合には弛緩させた場合と比較してDNA消化速度が2倍以上速くなることが示された。また、DNA-タンパク質間相互作用におけるタンパク質の詳細な挙動解析を目的としたタンパク質の蛍光標識法について検討し、DNA-タンパク質間相互作用を阻害しない蛍光標識方法を開発した。本研究で開発した1分子観察・反応解析方法は種々のDNA代謝酵素反応解析などに適用でき、分子レベルでの反応経路の詳細な解明につながることを期待される。これらの研究成果は査読つき論文2報、関連する査読つき論文5報、国際学会発表4件、国内学会発表6件として報告されている。以上により、本論文は博士(工学)の学位論文に相当するものと判定した。</p>		
審査委員	菊池 洋 	水野 彰 	田中 照通 
	高島 和則 	印	印

(注) 論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。