

平成 17年 2月 28日

豊橋技術科学大学長 殿

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。

記

学位申請者	小松 旬	学籍番号	第 9 8 3 8 1 2 号
申請学位	博士(工学)	専攻名	環境・生命工学専攻
論文題目	Handling methods of chromosomal DNA molecules based on electrostatics (静電気を応用した染色体DNAのハンドリング技術の開発)		
公開審査会の日	平成 17年 2月 16日		
論文審査の期間	平成 17年 1月 26日～平成 17年 2月 28日	論文審査の結果	合格
最終試験の日	平成 17年 2月 16日	最終試験の結果	合格
論文内容の要旨	<p>従来のゲノム解析技術は、巨大な染色体DNAの情報を一旦細分化し、各断片の情報の決定後に再構築するプロセスをとっている。この順序情報を維持したまま各断片の解析を行なうことで、高速ゲノム解析が可能になると考えられるが、巨大DNAはハンドリング中に容易に断片化してしまう。本論文は、断片化を抑制した細胞からの染色体DNAの回収法と、DNAの伸長固定法について述べている。</p> <p>本論文は7章で構成され、第1章ではDNAのハンドリング技術に関する現状について記し、第2章ではゲノム解析における本論文の位置づけを述べている。第3章では本研究に用いたDNA分子の観察・操作法について述べている。第4章ではDNAのグロビュール相転移のリアルタイム観察によって、電気泳動と電極反応によって生じる陽イオンを利用し断片化を抑制したDNA回収法の可能性を示し、第5章では酵母細胞を対象として、実際に巨大染色体DNAの回収を、グロビュール相転移を伴いながら行う事で断片化の抑制が可能である事を示している。第6章では、凍結操作によりDNA溶液中に固液界面の移動を生じさせて、それによるDNAの伸張固定法について述べている。また、局所温度制御によって固液界面移動を任意に行い、DNAのパターニングの可能性を示している。第7章では上記結果の総括について述べている。</p>		
審査結果の要旨	<p>本研究ではまず、断片化を抑制したDNAの回収法を確立した。DNAの断片化の最大の原因はハンドリング中に生じるせん断応力である。本研究では、断片化に強いグロビュール相転移に必要なバッファー交換を電気泳動力のみで実現する事により、せん断応力の主要原因である溶液の対流を発生させずDNAのグロビュール相転移を起こすことに成功した。このことは蛍光顕微鏡観察による実時間観察によって確認され、また実際に酵母染色体DNAの細胞からの回収に適用し、回収操作後においても断片化が起きていないことも確認された。さらに、凍結操作による固液界面の移動によってDNA分子が凍結溶液中への伸張および固定される事を直接的に観察した。この方法によって、基板、DNA共に無修飾の状態DNAを伸張固定することが可能になり、伸張したDNAに対する酵素反応や断片回収などが阻害無く行なえることが期待される。また、凍結DNA溶液に赤外線レーザーを照射して局所的融解領域を発生させることで、レーザー操作パターンに沿った任意形状で伸張固定が可能であることが示唆された。これら成果は、DNAの物理操作に基づく高速ゲノム解析技術に大きく貢献できるものと考えられる。またこれらの成果は学術論文2編(海外2編)、国際会議発表2件、国内会議発表10件にて発表し、高い評価を得ている。</p> <p>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	浴 俊彦
	桂 進司	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。