

氏名	MYAT THU
授与した学位	博士
専攻分野の名称	統合科学
学位授与番号	博甲第 6941 号
学位授与の日付	2023年 9月 25日
学位授与の要件	ヘルスシステム統合科学研究科          ヘルスシステム統合科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Development of novel probe for detecting two mutations on one RNA (1つのRNA上の2つの変異を検出する新規プローブの開発)
論文審査委員	教授 井出 徹          教授 大槻 高史          准教授 渡邊 和則
<b>学位論文内容の要旨</b>	
<p><b>Chapter 1. General Introduction</b></p> <p>In the chapter one, I described a brief description of the role of RNA and its significance in disease-related fields, particularly in cancer. And also, I summarized the principle and applications of Fluorescence resonance energy transfer (FRET).</p> <p><b>Chapter 2. FRET probe for detection two mutations on one EGFR mRNA</b></p> <p>The chapter two provided the development of a FRET probe and its application for detecting two mutations on EGFR mRNA. Specifically, we developed the DAt-probe targeting exon19 deletion (exon19 del) mutation and the T-probe series targeting T790 mutation on EGFR mRNA in lung cancer. Additionally, we assessed their abilities as a promising FRET probe for detecting double mutations of single EGFR mRNA. Moreover, we found the FRET signal ratio was more intense when two mutations were in close proximity. Therefore, we proposed to develop a single-molecule FRET (smFRET) probe.</p> <p><b>Chapter 3. Development of single-molecule FRET (smFRET) probe for detecting two mutations in one EGFR mRNA</b></p> <p>To enhance the detection efficiency of two distant mutations, we developed a new single-molecule FRET (smFRET) probe based on our exiting DAt-/T4 – probe pair. And also, we conducted the investigations to assess how effectively the smFRET probe could detect instances where both mutations are present simultaneously.</p>	

## 論文審査結果の要旨

本研究では、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用して、同一 RNA 中の 2 つの変異を同時に検出する新規プローブセット (DAt-probe と T-probe) の設計・開発が行われた。蛍光基 Atto488 と消光基 Dabcyl を有する DAt-probe は癌変異 (exon19del) の検出に用いた。蛍光基 Tamra を有する T-probe は上皮成長因子受容体 (EGFR) mRNA 中の薬剤耐性変異 (T790M) の検出に用いた。これらのプローブは、両方の変異が mRNA 中に存在する場合に FRET を引き起こすように設計された。ゲル電気泳動により、2 つのプローブが変異型 mRNA に効率よく結合できることが確認された。また、野生型と二重変異型 RNA を用いて FRET 比を測定したところ、両者の間に有意な差が認められた。さらに、生きた細胞内でも、FRET プローブは変異型 RNA を可視化することができた。これらの結果から、単一の EGFR mRNA 中の 2 つの変異を FRET を介して検出するプローブセットを創ることに成功したと言える。このプローブセットを用いた変異検出法は、今後、生命科学研究および医学的研究・がんの診断法などに役立つことが期待される。

これらの研究成果は、バイオ・創薬研究において有用な知見と方法論を提供するものだと考え、学位審査委員会は学位論文の内容、公聴会による発表内容等を総合的に判断し、本論文は博士 (統合科学) に値するものと判定した。