

## 審査の結果の要旨

氏名 原 暁非

本論文は、生体物質である蛋白質と分子構造を精密に制御した合成高分子であるブロック共重合体によって高分子集合体を形成させることにより蛋白質の構造安定性と機能を向上させる手法を確立すると共に、分光学的方法論による詳細な構造機能相関解析に基づき、従来の高分子ミセルにみられない新規機能性材料としての高分子集合体設計指針を提案するものである。以下、章ごとにその内容を概観し、本論文の審査結果を述べる。

第1章では蛋白質の構造機能相関について述べ、様々な産業分野からの蛋白質構造安定性向上の要請と現状について概観した。特に本論文で蛋白質の高機能化材料として、蛋白質と高分子集合体との複合化に着目する背景について、応用分野での用途を考慮しつつ従来法との比較・検討を行い、本論文で提案するブロック共重合体による高分子ミセル法の優位性を位置付けている。

第2章では、末端に疎水性官能基として種々の芳香族化合物を導入したポリエチレングリコール(PEG)-ポリ( , -アスパラギン酸)を新規に合成すると共に、このブロック共重合体とモデル蛋白質であるリゾチームとの間に働く静電相互作用を形成駆動力とするリゾチーム内包高分子ミセルを調製し、光散乱や可視紫外吸収分光及び蛍光分光法などを用いて物理化学的特性解析を行った。その結果、いずれのブロック共重合体も蛋白質を内核に内包する粒径 50-90nm の高分子ミセルを形成し、この構造体が水溶液中での希釈安定性に優れていること、塩濃度の増大に対しては一定の安定性は得られたものの生理塩濃度条件下では静電相互作用の遮蔽が大きく十分な安定性が得られないことを確認した。

第3章では、生理塩濃度条件下での蛋白質内包高分子ミセルの構造安定性を増大させるため、内核となるリゾチームとブロック共重合体の末端のアミノ基との間にグルタルアルデヒドによる架橋の導入を試みた。その影響を検討する上で、末端にアセチル基を導入することで架橋形成に参与し得ないブロック共重合体を新たに合成し、両者の比較により架橋の効果を評価した。内包蛋白質と高分子ミセルの構造安定性については、上述の測定法以外に円二色性偏光分光法も加え詳細に検討している。その結果、架橋剤は蛋白質構造や高分子ミセルの粒径に影響を与えず、酸性及び塩基性条件下、有機溶剤混在下の広範な溶液環境においても十分な安定性を

与えることが確認され、産業応用上の実用性があることも証明された。また架橋剤とブロック共重合体、内包蛋白質との相互作用についても分光学的な詳細な検討を行い、学術的にも興味深いピリジニウム構造の形成と寄与についても指摘している。

第4章では、上述の設計指針により構築された蛋白質内包高分子ミセルの機能評価として内包蛋白質の機能に着目し、酵素反応速度論的解析により酵素活性を評価した。この評価では、純粋なリゾチーム、非架橋高分子ミセルに内包されたリゾチーム、架橋高分子ミセルに内包されたリゾチームの3種に対し、Lineweaver-Burk プロット解析により比較した。この結果、非架橋高分子ミセルに内包されたリゾチームの最大酵素反応速度が純粋なリゾチームより10%程度大きな値となったが、これは高分子ミセルが単に蛋白質を安定に内包するのみならず、反応速度を制御し得るナノリアクターとして機能することを意味する。また架橋導入系での最大酵素反応速度は純粋なリゾチームや非架橋高分子ミセル系と比較すると架橋導入率に比例して低下するが、これは架橋剤がリゾチームの活性中心に位置する62番目のアミノ酸残基であるトリプトファンと相互作用するためと結論している。さらに見かけの反応速度は、基質が高濃度で存在する場合には架橋導入により30%程度の減少が認められたものの、基質が低濃度になると見かけの反応速度は2倍程度に増大したことから、高分子ミセルには低濃度の基質存在下で基質濃縮効果による酵素活性増大機能があると結論した。これらの発見は従来の高分子ミセルにない新たな機能を見いだした成果として重要である。

第5章では架橋高分子ミセルのさらなる機能化を図り、PEG-ポリ(リシン)ブロック共重合体とポリリンゴ酸との静電相互作用により高分子ミセルを調製しグルタルアルデヒドによる架橋を導入した後、ポリリンゴ酸を加水分解により取り除き、内核に高密度に正電荷が導入された超分子構造体を調製した。この構造体は、負電荷を有する種々の化学種を静電相互作用により内核に取り込み安定な運搬を可能にする、従来にない全く新しいキャリア材料として、第4章までの結果に基づいて提案されている。

第6章では総括として本論文を、ブロック共重合体-蛋白質による高分子集合体の構造解析を中心とする特性解析の基礎を詳述すると共に、ナノリアクターとしての高分子ミセルの新機能を見いだした研究と位置付けている。またこれらの基本設計指針に基づき、第5章で述べられている通り、新規キャリア材料の設計が可能であることを提案している。

第7章は光散乱実験法の基礎を補追し、第8章では発表論文一覧である。

上記の通り、本論文はブロック共重合体の精密重合を基盤とし、合成高分子と蛋白

質との集合体形成により蛋白質内包高分子ミセルを調製するとともに、詳細な物理化学的特性解析を通じて構造機能相関を確立した。またこれら特性解析に基づき、新規の高分子集合体の設計指針を提案している。これらの業績は国際的に権威ある学術雑誌に3報の原著論文として報告され、学術的にも当該分野の進展に寄与するだけでなく、蛋白質の安定性向上、機能性付与の面で産業応用面でも重要な材料設計指針を与えている。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。