

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 黒木秀記

本論文は、「微細孔構造制御に基づいた生体分子認識ゲート膜の開発」と題し、微細孔内で特定の生体分子による架橋結合とポリマーの相転移を利用した新規ゲートシステムであり、高感度生体分子認識ゲート膜の開発を目的に行なわれた研究を纏めたもので、以下の6章から構成される。

第1章は序論であり、本研究の目的を述べている。まず、体積相転移ハイドロゲル、分子認識材料、バイオセンサー、刺激応答ゲート膜について既往の研究の概説を行なっている。その上で、低濃度の生体分子シグナルに応答して細孔の開閉を制御する生体分子認識ゲート膜の提案を行っている。生体分子認識ゲート膜は、多孔基材の細孔内部に体積相転移素子と生体分子認識素子の両方の機能を有するグラフトポリマーを固定した多孔膜である。本ゲート膜では、微細孔内で特定の生体分子とグラフトポリマーにペンドラントされたレセプター分子が反応し、グラフトポリマーが架橋構造を形成する。その後、温度刺激を加えグラフトポリマーを収縮させる。この際、特定の生体分子が存在する場合、架橋点がグラフトポリマーの収縮を阻害し細孔は閉塞した状態を維持する。一方で、他の生体分子ではグラフトポリマーの反応部位と結合しないため、グラフトポリマーの収縮は阻害されず細孔は開いた状態となる。このように、生体分子シグナルを細孔の開閉に変換できれば、着色物質の透過や浸透圧などで信号を増幅することも可能であり、簡便に低濃度の生体物質を検出できることを提案している。

第2章は生体分子認識ゲート膜の作製法について述べている。生体分子認識結合はアビジン-ビオチン結合を採用している。また、ビオチン結合サイトはアビジン表層から深部に存在するため、スペーサーの異なる2種類のビオチンモノマーの合成を行っている。合成したビオチンモノマーを用い、プラズマグラフト重合法により、温度応答性ポリマーである poly(*N*-isopropylacrylamide)とアビジン認識素子であるビオチンの共重合グラフトポリマーを細孔表面に固定できることを示し、アビジン認識ゲート膜の製膜法を確立している。さらに、顕微ラマン測定から、細孔内に導入されたグラフトポリマーは、膜厚方向に対して概ね均一に固定されていることを示している。

第3章はアビジン認識ゲート膜のアビジン応答特性について述べている。作製したアビジン認識ゲート膜を用い、アビジン認識反応に伴い、透過流束が約5倍抑制されることを示している。また、アビジンと特異的に反応することにより浸透圧が出力されることにも成功し、新規ゲートシステムのコンセプトを実証している。さらに、ポリエチレングリコール・スペーサーを導入したアビジン認識ゲート膜では、アビジンとの反応により膜透過流束が約25倍も抑制できることを示している。このゲート膜は、既存のイオン認識ゲート膜と比較して、分子量の大きいタンパク質に応答だけでなく、シグナル物質となる特定分子を従来の $10^3 \sim 10^5$ 倍高感度に識別できることを示している。

第4章はプラズマグラフト重合膜の微細孔構造の解析を行っている。プラズマグラフト重合膜の基材部のみを化学的に分解し、細孔内に固定されたグラフトポリマーの単離手法を確立している。さらに、細孔内でのグラフトポリマー充填率の異なる膜を用いて

グラフトポリマーを単離し、下記に示す細孔内部でのグラフトポリマーの分子量分布を確認している。①グラフトポリマーは数万～数百万の分子量分布を有する、②高充填率になるにつれて高分子量ポリマーの割合が増加する、③充填率の増加に伴いポリマー本数が増加する、④分子量分布を有するグラフトポリマーは膜厚方向に対して均一に固定される。また、本手法は、他の固定化手法で作製されたゲート膜の細孔内構造を解明する上で有効な手法であると考えられる。

第5章は、第4章で得られた知見を基に、第3章の生体分子認識ゲート膜における微細孔内での生体分子架橋反応に関して考察を行い、さらに、生体分子認識ゲート膜の性能予測から新規ゲートシステムの有効性を示している。細孔内グラフトポリマーの分子量分布とゲート膜の透過流束特性の関係を考察し、以下のことを明らかにしている。①細孔内でのポリマー充填率10%においても、グラフトポリマーの膨潤状態で細孔を閉塞するのに十分な高分子量ポリマー（数十万～数百万）が存在し、細孔を閉塞させる、②充填率30%以下では、ポリマー鎖密度が希薄であるため、グラフトポリマーが収縮する空間が細孔表面付近に存在し、グラフトポリマーが収縮したときに基材と同程度の高い透過流束が得られる。生体分子認識ゲート膜の細孔内架橋反応では、高分子量ポリマーが絡み合う部分で架橋結合が形成されることが考えられる。生体分子認識ゲート膜の細孔内部では、刺激応答ポリマーの膨潤収縮挙動に伴う透過流束の大きな変化を起こす空間と効率良く架橋反応が生じるための高分子量ポリマーの絡み合いが必要であり、両者を満たす細孔内グラフトポリマーの設計が必要であることを示唆している。また、今回用いた反応にかかわらず、多様な生体分子への展開を考え、細孔内における生体分子結合の平衡定数から、生体分子認識ゲート膜の応答性能を予測している。計算結果から、幅広い平衡定数を持つ様々な抗原抗体反応にも応用でき、少ない架橋点を形成したグラフトポリマーにより溶質透過性の制御を実現することで、従来の検査手法を上回る高感度バイオセンサーの開発が可能であり、本論文で提案した新規ゲートシステムの有効性と発展性を示している。

第6章は、第2章から第5章に記載した内容を総括するとともに、将来、生体分子認識ゲート膜を用いた新規バイオセンサーは、腫瘍ウイルスやホルモン物質などを即時に検査する手段として有効であり、医療診断、食品管理、環境保全といった多様な分野へ貢献できることを示している。

以上纏めると、本論文は材料システム工学の考え方に基づき、簡便・高感度を有するバイオセンサーを目指した生体分子認識ゲート膜の開発を行ったものである。本論文は個別の技術開発にとどまらず、生体分子認識結合とポリマーの体積相転移というミクロな現象から微細孔内部でのポリマー構造制御によりマクロな膜透過現象へと繋げ、材料が示す機能のシステム的な設計に基づいて構築されており、化学システム工学への貢献は大きい。

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。