

審査の結果の要旨

氏名 菊池 貴

本論文では、自己集合性球状錯体のナノ表面上に生体分子の精密なクラスターを構築し、分子認識表面として利用する手法が開発された。生体内では、ペプチドや糖鎖などの生体分子が多数クラスター化することで、精密な細胞認識やシグナル伝達を行っている。近年、金属ナノ粒子やポリマー粒子の表面を多数の DNA やペプチド、糖鎖などの生体分子で修飾することで、生体モデルや分子認識材料として利用する研究がさかんに行われているが、人工ナノ粒子を基盤とした生体分子クラスターのサイズや形状を精密に制御することは一般に困難である。本論文では、一義構造を持つ球状錯体の自己組織化を利用することで、球状錯体表面に精密構造を有する生体分子クラスターが構築された。これらの錯体は、錯体表面の生体分子が多数協同的に相互作用することで、生体分子や無機基板を効率的に認識することが明らかにされた。

第1章では、本研究の概要とその研究背景、そして学問的意義が論じられた。

第2章では、自己集合性球状錯体の表面を DNA 鎖で修飾することで、単一構造を有する DNA クラスターの構築と、錯体表面における相補 DNA の精密認識が行われた。1-3 塩基のチミンからなる DNA を外側に連結した配位子と Pd(II) イオンから、表面を 24 本の DNA 鎖で高密度に被覆された球状錯体が定量的に構築され、NMR および質量分析により構造決定された。¹H NMR 実験により、得られたチミン被覆錯体は相補塩基であるアデニンからなる DNA と選択的に二重鎖を形成し、相補塩基とミスマッチ塩基を識別できることが明らかにされた。低極性の DMSO/CHCl₃(1:4)混合溶媒中では、3 塩基の DNA で修飾した錯体が相補鎖との塩基対形成によって架橋され、ネットワーク構造が構築されたことが示された。球状錯体表面に DNA 鎖を多価提示することにより、多数の水素結合が協同的に作用し、塩基対の結合力の増幅が見出された。

第3章では、カチオン性ペプチドで表面修飾した球状錯体による DNA の特異な折り畳みが実現された。真核細胞内で DNA はカチオン性タンパク質であるヒストンにより段階的に折り畳まれているが、これを人工カチオン材料で再現できた例は少ない。本章では、ヒストンと同等の大きさと高い表面正電荷を有する

ペプチド修飾球状錯体を用いることで、段階的なDNAの折り畳みが達成された。DNAに対して球状錯体を電荷比1:0.9の比で加えることで、剛直なDNA鎖が錯体の結合によってランダムに折り曲げられた”beads-on-a-string”構造が形成され、その構造はAFMにより直接観察された。さらに球状錯体を電荷比1:9まで加えることで、DNA1分子が均一な大きさの球状粒子へと凝縮されることが明らかにされた。これらのDNA-錯体複合体の構造変化は、DLSによる粒径測定によっても支持された。段階的な凝縮挙動から、カチオン性球状錯体がヒストンと同様にDNAを巻き取りながら折り畳んでいる機構が推定された。

第4章では、無機材料結合性ペプチドを球状錯体表面に集積することで、ペプチドの基板への結合力が増幅され、球状錯体の無機材料への固定化が行われた。チタン結合性ペプチドminTBP-1 (Arg-Lys-Leu-Pro-Asp-Ala)を外側に連結した配位子とPd(II)イオンから、表面に24本のチタン結合性ペプチドを有する球状錯体が定量的に構築され、各種NMRの解析によりその構造が明らかにされた。液中AFMにより、得られた球状錯体は酸化チタン基板に密集して結合することが示された。また、QCM測定により、球状錯体錯体はチタン基板上に不可逆に単層吸着し、非常に安定に固定化されていることが明らかにされた。対照実験により、球状錯体は錯体表面に高密度集積されたペプチド鎖とチタン基板との間の多点結合によって基板表面に強く固定化されていることが示された。

第5章では、ウィルスのカチオン性タンパク質内表面を模倣し、球状錯体の内面にカチオン性表面を構築することで、その内部空間でのアニオン包接、およびアニオン性モノマーの重合制御が行われた。内側に第四級アンモニウムカチオンを連結した配位子とPd(II)イオンから、内面に24個のカチオンを集積した球状錯体が構築された。NMR実験により、錯体内部に多価アニオンが強く包接されることが見出された。さらに、錯体内部を鋳型としてアニオン性モノマーのラジカル重合反応を行い、錯体が重合反応を加速させること、および生成するポリマーの分子量・多分散度が小さくなることが示された。対照実験の結果から、アニオン性モノマーと球状錯体のカチオン性内表面が静電相互作用しながら重合することで反応が進行していることが検証された。

第6章では、本研究の総括が行われ、さらに本研究の波及効果及び将来展望が論じられた。

以上本研究では、精密構造を有する球状錯体を鋳型とすることで、生体分子を精密に集積したクラスターが構築され、さらにその表面での分子認識が行われた。今回開発された生体分子クラスターの構築手法は、精密な分子認識能を有する生体分子材料としての応用のみならず、生命現象を解明するための有用なモデルとして期待される。

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。