

審査の結果の要旨

氏名 陳環

マテリアルに特異的に結合するペプチドの探索の研究は、これまでに 20 年以上にわたり、広範に検討されてきた。その間、無機結晶や半導体・酸化物あるいはナノカーボン、合成ポリマーといった様々なマテリアルに結合するペプチドが取得され、ペプチド-マテリアル間相互作用の解析や、ペプチドの機能性ナノマテリアルとしての応用が検討されてきた。ペプチドはターゲットの分散剤及び修飾剤、ナノ粒子の集積、半導体基板のパターニングなどといった様々な応用に適用可能である。しかし、単なる認識では実際の応用展開が限られてしまうので、外部刺激により可逆的にコントロールできることが要請される。本研究では光異性化小分子アゾベンゼンをターゲットとし、ファージディスプレイ法を用いてシス体アゾベンゼンを認識するペプチドの探索に成功した。そのペプチドとシス体アゾベンゼン含有ポリマーとの結合を詳細に検討した。また、このペプチドを蛋白質に融合し、シス体アゾベンゼン含有ポリマーフィルム表面に選択的に固定化できることを実証した。

本論文は全 7 章で構成されており、詳細は以下の通りである。

第一章は序論であり、これまで行われているファージディスプレイ法、マテリアル結合ペプチドの研究ならびに、アゾベンゼンについての従来研究及び本研究を進めるうえで必要な知見や背景を概観し、本研究の位置づけや方向性を述べている。

第二章では、アゾベンゼンモノマーを合成し、ヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA) と共重合した。さらにポリマーの表面状態、トランス体対シス体の割合、熱安定性などを評価し、合成したアゾベンゼン含有ポリマーがファージディスプレイ法に適用するターゲットとなりうることを示している。

第三章では、可視光下でランダムなペプチドを提示するファージライブラリーからアゾベンゼン含有ポリマーフィルム (第二章で合成) を認識するペプチドをスクリーニングすることに成功している。クローンファージの末端に提示するペプチドの配列を決定し、ELISA によりクローンファージの結合を評価した。その結果、全てのクローンファージはトランス体アゾベンゼンと強く結合するが、ペプチド自体はシス体アゾベンゼンをより強く結合することが明らかとなった。認識するモチーフは WHTL PNA (ペプチド c16) であることを明ら

かにした。

第四章では、シス体アゾベンゼン含有ポリマーフィルムを認識するペプチドモチーフの詳細な検討を行っている。表面プラズモン共鳴測定により、ペプチド **c16** がトランス体フィルムよりもより強くシス体アゾベンゼンフィルムと結合することを定量的に明らかにしている。水晶振動子マイクロバランス測定により、光を照射するとフィルム表面のアゾ基が異性化し、ペプチドの結合量を可逆的に制御できることが分かった。シス体アゾベンゼンポリマーフィルムを認識するモチーフの中で、七個全てのアミノ酸は認識に重要であり、他のアミノ酸で置き換えることはできない。配列の連続性も重要であり、認識は一次構造で決まることが示唆された。

第五章では、アゾベンゼンの代わりに水に可溶性の 4-フェニルアゾ安息香酸を用い、ペプチドとの相互作用を消光実験ならびに二次元 NMR により検討している。

第六章では、ペプチド **c16** を蛍光蛋白質 (**c16-GFP**) に融合し、本系の実用性を評価している。**c16-GFP** はトランス体アゾベンゼンポリマーフィルムとほとんど結合しないが、シス体フィルムとは顕著な結合を示した。このことからペプチド **c16** がバイオセンサーチップなどに応用展開できることが示唆されている。

第七章では、本研究で得られた知見を総括し、将来の応用について述べている。

以上のように、本論文は、光をスイッチとして生体分子と材料との結合を可逆的に制御することを目的とし、アゾベンゼンの異性化を認識するペプチドを探索し、詳細に結合能を検討し、その応用を展開したものである。これらの知見は、光制御できる新たなバイオシステムの構築の発展に大きく寄与することが期待される。

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。