

審査の結果の要旨

氏名 大黒 耕

生体高分子の化学修飾は、生理現象を理解し、医療や生体材料科学へと応用するために必要不可欠な技術である。これまで数多くの化学修飾法が開発されており、有機化学反応あるいは生体反応を基盤とした共有結合形成や、抗原-抗体などの特異的相互作用を利用した手法が広く用いられている。しかしながら、これらの手法は対象とする生体高分子の立体構造などの因子に強く依拠しており、汎用性の点で不十分であった。本論文では、生体高分子が普遍的にもつオキシアニオン性官能基を修飾の足場とする非共有結合的な相互作用を用いることで、汎用的な生体高分子の化学修飾法を開拓することを目的とした研究について述べている。

序論では、はじめに過去に報告された生体高分子の化学修飾法について述べている。共有結合形成を利用した手法と非共有結合的な相互作用に基づく手法を比較し、標的とする生体高分子への影響や立体構造情報の必要性などの観点から、非共有結合的な手法の汎用性の高さを提示している。さらに、生理的条件下において高い親和性を実現する戦略として、多価相互作用の重要性について述べている。

第1章では、グアニジンとオキシアニオンの多重塩橋形成を利用して生体高分子に接着する「モレキュラーグルー」として、末端に多数のグアニジンを有するデンドリマーを合成し、その性質を詳細に調べている。等温滴定型熱量測定によってタンパク質表面への親和性を調べており、オキシエチレン鎖による柔軟性と、多点相互作用を可能にする分岐骨格の必要性を示している。また、モレキュラーグルーの接着によりチューブリントタンパク質の会合体である微小管を安定化させ、脱重合過程を阻害できることを見出している。細胞分裂の駆動力となる微小管の動的な重合・脱重合を停止させる作用は、癌細胞の増殖抑制へと応用することが可能であり、モレキュラーグルーの高分子医薬としての可能性を示している。

第2章では、第1章で示したタンパク質会合体の動的挙動の停止作用を異なる2種のタンパク質からなる会合体へと拡張できることを述べている。例として、筋収縮や細胞動態などの源であるアクチン・ミオシンの滑り運動に着目し、

モレキュラーグルーの接着がこれらのモータータンパク質の運動を停止させることを報告している。また、滑り運動の駆動力を産出するミオシンの ATP 加水分解活性を測定し、滑り運動の停止がタンパク質の変性によるものではなく、アクチン・ミオシンが形成する会合体を接着し、安定化するためであると結論づけている。

第3章では、グアニジンの高い細胞膜透過性に着目し、モレキュラーグルーを用いた細胞内タンパク質デリバリーについて報告している。共焦点顕微鏡、フローサイトメトリーを用いて導入されたタンパク質の定量・可視化を行い、疎水性の機能団をコアにもつモレキュラーグルーが既報のタンパク質導入試薬を大きく上回るデリバリー性能を示すことを見出している。また、モレキュラーグルーがタンパク質を細胞内に輸送する経路にも言及しており、エンドサイトーシスによる取り込み経路に加え、細胞膜を直接透過する経路の存在を明らかにしている。さらに、細胞内に導入したタンパク質の酵素活性を評価し、モレキュラーグルーを媒介としたタンパク質デリバリーが標的タンパク質の機能を損なわないものであることを示している。これは、共有結合的に膜透過性分子を修飾する手法がもつ標的タンパク質の変性や失活という問題点を解決している点で大変意義深い。また、モレキュラーグルーの細胞毒性を評価し、タンパク質デリバリーに必要な量では毒性をもたないことを明らかにしている。タンパク質の細胞内デリバリーは、核酸デリバリーと比較して標的分子の性質の違いが大きく影響するため、汎用的な手法の開拓が困難であった。本研究で確立したモレキュラーグルーの接着は、この問題を解決する有効な手段であると考えられ、タンパク質医薬の実用性を上げたという点で意義深い。

以上、本論文では、生体高分子が普遍的にもつオキシアニオン性官能基を足場とした非共有結合的相互作用を利用し、汎用的な化学修飾を実現できるツールとして「モレキュラーグルー」の有効性が示されている。このようなコンセプトに基づく化学修飾の方法論は本研究が初めてであり、従来の選択的・特異的な手法に対して相補的なものである。また、本論文で報告しているタンパク質会合体の動的挙動制御やタンパク質デリバリーをはじめとする応用は、医学・バイオテクノロジー分野の今後の発展に大きく寄与することが見込まれる。

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。