

Title	MOLECULAR RECOGNITION SYSTEMS USING BIOLOGICAL AND SYNTHETIC MACROMOLECULES
Author(s)	大井, 航
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58587">https://hdl.handle.net/11094/58587</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	おおい わたる 大井 航
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 24350 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	MOLECULAR RECOGNITION SYSTEMS USING BIOLOGICAL AND SYNTHETIC MACROMOLECULES (生体高分子および合成高分子を用いた分子認識システム)
論文審査委員	(主査) 教授 原田 明 (副査) 教授 今田 勝巳 教授 栗栖 源嗣

### 論文内容の要旨

本研究では、生体高分子の分子認識能の利用として抗体とカーボンナノチューブ複合体のシグナル増幅への応用について検討した。また、生体系における高分子の分子認識に着目して、生体高分子あるいは合成高分子とシクロデキストリン(CD)との相互作用を調べた。

2 章では、抗体によって可溶化した単層カーボンナノチューブ (SWNT) の複合体を用いて、簡便で汎用的に使われている酵素標識抗体測定法 (ELISA) のシグナル増幅を行った。

多くの溶媒に難溶である SWNT の可溶化について種々のタンパク質を用いて検討した。タンパク質を含んだリン酸緩衝溶液に SWNT を懸濁させた後、1 時間の超音波照射を行った。その結果、抗体が SWNT をよく溶かすことが分かった。また、抗体のどの部分が SWNT と相互作用しているかについて、フラグメント化した Fc 部と Fab 部による SWNT の可溶化について検討したところ、Fc 部が Fab 部より高い可溶化能を示した。可溶化によって得られた抗体-SWNT 複合体を ELISA に用いた。その結果、ELISA のシグナル増幅および感度を上昇させることに成功した。

3 章では、構造が類似していると考えられる二つのタンパク質、ヒト血清アルブミン(HSA)およびウシ血清アルブミン(BSA)とシクロデキストリン(CD)との相互作用について、二次元 NOESY NMR(2D NOESY)、定常光蛍光スペクトル、等温滴定熱量測定(ITC)および円二色性スペクトルより調べた。

2D NOESY 測定より HSA に対しては $\alpha$ -,  $\beta$ -CD が相互作用しているが、 $\gamma$ -CD は相互作用していないことが示された。一方で BSA に対してはいずれの CD も相互作用していないことが明らかとなった。また、定常光蛍光スペクトルおよび ITC では CD と HSA あるいは BSA との間に有意な相互作用は確認されなかった。これは、HSA に対する $\alpha$ -,  $\beta$ -CD の相互作用が小さいためと考えられる。円二色性スペクトルにおいては CD 存在下でも HSA および BSA の顕著なスペクトルの変化が認められなかったことから、 $\alpha$ -,  $\beta$ -CD は HSA の表面のチロシン残基あるいはフェニルアラニン残基と相互作用していると考えられる。 $\alpha$ -,  $\beta$ -CD は HSA と BSA のわずかな違いを認識していると考えられる。

4章では、CDとアミノ酸を側鎖に有する合成高分子(pAXaa)との相互作用をNMRより調べ、対応するモデルアミノ酸(Xaa)とCDとの相互作用と比較した。

pAXaaとCDとの見かけの会合定数をNMRによって求めたところ、フェニルアラニン(Phe)を有するpAPheとチロシン(Tyr)を有するpATyrと $\alpha$ -CD、トリプトファン(Trp)を有するpATrpと $\beta$ -CDと $\gamma$ -CDについてそれぞれ見積もることが出来た。しかし、その他のバリン(Val)、イソロイシン(Ile)を有するpAValとpAlleについてはいずれのCDについても相互作用が小さく見積もることが出来なかった。一方でモデル化合物においては、 $\beta$ -CDとVal、 $\alpha$ -, $\beta$ -CDとIleおよび芳香族アミノ酸のPhe、Tyr、Trpに対して全てのCDで求めることが出来た。これらpAXaaあるいはXaaとCDとの会合定数の比較から、CDとの相互作用において、分子体積の小さい分子では高分子の主鎖あるいは側鎖間の立体的な影響を大きく受けるということが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

グルコース（ブドウ糖）の環状分子であるシクロデキストリン（CD）はその環内にさまざまな低分子を取り込み包接化合物を形成することが知られている。しかし、CDが高分子を取り込むことは知られていなかった。研究室ではCDが水溶性の合成高分子をとりこみ、包接錯体を形成することをみだしていたが、CDがタンパク質などの生体高分子を取り込むことはほとんど知られていなかった。そこでCDとさまざまなタンパク質との相互作用について検討したところ、CDは特定のタンパク質と相互作用をすることがわかった。たとえば、2次元NMRの測定により、CDは牛血清アルブミン（BSA）とは相互作用は観察されないが、ヒト血清アルブミン（HSA）とはその芳香環部分と相互作用が観測された。この相互作用の違いについて詳細に検討したところ、まず、どちらのタンパク質ともCDを加えても円二色スペクトルは変化せず、立体構造は大きくは変化していないことが明らかになった。また、タンパク質の蛍光スペクトルもCDにより、ほとんど変化せず、CDはタンパク質のトリプトファン残基との相互作用も強くないことがわかった。すなわち、CDはタンパク質の表面のフェニルアラニンかチロシンのような芳香環を取り込んでいることがわかった。BSAとHSAとはそれらのアミノ酸配列も類似しており、CDはそれらのわずかの違いを認識していることが明らかになった。

そこで、アミノ酸を側鎖に有する高分子をアミノ酸モノマーの重合により合成し、CDとの相互作用について検討した。NMRなどによる測定の結果、CDはアラニンやバリンのような小さなアミノ酸を有するポリマーとは相互作用はほとんど観測されないが、フェニルアラニンやトリプトファンを有するポリマーとは大きな相互作用が観測された。特にCDはロイシンなどのアミノ酸とはNMRで相互作用が観測されたが、ポリマーの場合には相互作用は観測されなかった。本論文では、このことが小さなアミノ酸を側鎖に有する場合には高分子主鎖の立体的な影響を受け、相互作用が抑えられるが、フェニルアラニンやトリプトファンのようなアミノ酸を含むポリマーの場合にはポリマー主鎖の影響はあまり受けることなく、CDと相互作用することが明らかにされた。

CDとHSAとの相互作用について、そのアミノ酸配列と立体構造から検討し、BSAとの場合と比較検討し、相互作用のちがいについて明かにした。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。