

京都大学	博士（工学）	氏名	中村 圭佑
論文題目	Bio-Inspired Supramolecular Hydrogels Comprising Multi-Component and/or Out-of-Equilibrium Systems (多成分・非平衡なバイオインスパイアード超分子ヒドロゲル)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>究極の超分子系である生命は、外部環境への高い適応性、優れた力学物性など、従来の人工材料ではなし得ない驚くべき機能・物性を発現する。生命は、無数の生体分子が自己と他者を見分けながら精密に自己集合体を形成する「多成分系」と熱力学的平衡から外れた動的な集合体を作り出す「非平衡系」で構成されると言える。人工超分子系において多成分・非平衡系を模倣できれば、生命のように複雑で動的な機能・物性を持った新しい材料開発が可能になると期待される。本論文は、多成分・非平衡系に基づく新しい超分子ヒドロゲルの設計とその機能開拓についてまとめたものである。以下にその概要を示す。</p> <p>第一章では、非酵素タンパク質に応答する多成分超分子ヒドロゲルを開発した。抗体・受容体といった疾患に関連する非酵素タンパク質に応答できるヒドロゲルは、次世代の診断やドラッグデリバリーへの応用が期待される。しかし、従来の非酵タンパク質応答性ヒドロゲルは、標的との 1:1 の分子認識反応を基盤とするため応答変化が小さいことや感度が低い点が課題であった。そこで、ウシ炭酸脱水酵素 II(bCAII)応答性超分子ヒドロゲルと標的タンパク質に応答して bCAII の酵素活性を誘起するシステムを複合する戦略で、タンパク質応答性ヒドロゲルの構築を行った。このヒドロゲルは、bCAII の酵素反応を媒介することで高い感度で標的タンパク質に応答可能であり、ゲルからゾルへの劇的な物性の変化を誘起できることを実証した。</p> <p>第二章では、特定のタンパク質を検出し別のタンパク質を自律的に放出できる多成分ヒドロゲルの開発を行った。超分子ヒドロゲルは、薬剤放出マトリックスとして用いる際に力学強度が低い点が課題であった。そこで、第一章で開発した bCAII 応答性超分子ゲルとアガロースゲルからなる超分子・高分子複合ゲルを開発した。この複合ゲルは、アガロースゲルに由来する高い強度を有することが、レオロジー解析から定量的に示された。さらに、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)観察から、このゲルは超分子ネットワークと高分子ネットワークが互いに干渉せず複合化された <b>Orthogonal</b> なネットワークを形成することが明らかになった。この複合ゲルに対し、第一章で開発した bCAII 活性制御システムを内包することで超分子ネットワークによるタンパク質応答性も付与することに成功した。さらに、バイオ医薬品のモデルタンパク質としてミオグロビンを担持させたところ超分子ネットワークとの相互作用によりミオグロビンがヒドロゲルに担持されることを明らかにした。以上の知見を基に、ミオグロビンを担持したタンパク質応答性複合ゲルに、標的タンパク質を添加する事でミオグロビンの放出を誘導する事に成功した。開発したヒドロゲルは、将来的に疾病関連タンパク質が過剰に発現する部位でのみ薬剤タンパク質を放出可能な埋め込み型の自律放出材料としての展開が期待される。</p>			

第三章では、超分子・高分子複合ヒドロゲルのネットワーク構造の詳細な解析を行った。第二章で示したように超分子・高分子複合ゲルは非常に興味深い機能を示す多成分ゲルであり、そのネットワーク構造を解明することは超分子・高分子複合ゲルの新たな機能・物性を生み出す上で重要である。そこで、種々の超分子・高分子複合ゲルに対し、CLSMを用いた詳細な構造解析を行った。その結果、第二章で観察されたOrthogonalネットワークに加え、各ネットワークが互いに相互作用した3種類のネットワークを新たに発見した。CLSM測定により、従来の電子顕微鏡をはじめとする可視化法では観察することができなかった各々のネットワークの形態と空間分布を詳細に解析できることが示された。さらに形成過程の時間経過イメージングより、4種類のパターンが各ネットワークの形成速度とその間の相互作用によって支配されていることを明らかにした。また、時間と共にネットワークパターンが動的に変化するような超分子・高分子複合ゲルも発見した。種々の実験から、このパターン変化がmetastableなネットワークを経由した非平衡現象であることが示唆された。この複合ゲルの動的な特徴を利用することで、鋳型による圧縮を利用したヒドロゲルネットワークの空間パターンニングに成功した。以上の結果は、超分子・高分子複合ゲルの新しい構造・物性・機能を設計する際の礎となる重要な発見である。

第四章では、生命が作り出す複雑な非平衡パターン形成現象を人工分子系で実現することに成功した。生命は、複数の分子が相互作用しながら拡散することで非平衡状態に基づく複雑なパターンを形成する。こうした非平衡パターン形成を人工材料に組み込むことができれば、複雑で動的な機能を持ったこれまでにない材料になる。光異性化で崩壊・形成を繰り返すペプチドファイバーと脂質ファイバーからなるself-sorting supramolecular double network (SDN)ヒドロゲルを作成した。このSDNヒドロゲルは、フォトマスクにより局所的に光照射を行うと、光照射部位でペプチドファイバーを濃縮し巨視的な非平衡パターンを形成することを見出した。このようなパターンは、脂質ファイバーが存在しない場合には得られないことから、脂質ファイバーによるペプチドゲル化剤の捕捉が重要であることが示唆された。また、円偏光二色性スペクトル測定から、準安定なペプチドファイバーから、光照射で再形成した熱力学的に安定なファイバーへモノマーが供給されることがパターン形成の要因であることを明らかにした。このパターン形成現象は、拡散に依存したユニークなパターンを形成することがわかった。また、タンパク質を内包したSDNヒドロゲルに対して光照射することで、タンパク質のパターンニングも可能であることが実証された。これらの結果は、生命の作り出す複雑な非平衡パターンを人工分子系で設計するための重要な指針となる。

## (論文審査の結果の要旨)

本論文は、多成分と非平衡という概念に基づいた新しい生物模倣型超分子ヒドロゲルの設計と機能開拓を行った成果についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. 酵素応答性超分子ヒドロゲルと標的非酵素タンパク質に応答し駆動する酵素反応システムを複合することで、非酵素タンパク質応答性ヒドロゲルを開発した。
2. 第1章にて開発したタンパク質応答性超分子ヒドロゲルとアガロースを複合したヒドロゲルを開発した。共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)観察から、このゲルは超分子と高分子が互いに干渉せず複合化された **Orthogonal** なネットワークを形成することを明らかにした。さらに、高分子に由来する高い強度と超分子ネットワークのタンパク質応答性を両立していることも示し、標的タンパク質による別の薬剤タンパク質の放出制御にも成功した。
3. 種々の超分子・高分子複合ゲルに対し、**CLSM** を用いた詳細な構造解析を行うことで、**Orthogonal** なネットワークと各ネットワークが互いに相互作用した 3 種類のネットワークを形成することを明らかにした。さらに形成過程の時間経過イメージングより、4 種類のパターンが各ネットワークの形成速度とその間の相互作用によって支配されていることを明らかにした。また、ネットワークが動的に変化する超分子・高分子複合ゲルを発見し、圧縮によるゲルのパターンニングに成功した。
4. 光異性化で崩壊・形成を繰り返すペプチドファイバーと脂質ファイバーからなる **self-sorting** 型超分子ダブルネットワークヒドロゲルが、光照射部位でペプチドファイバーを濃縮し巨視的な非平衡パターンを形成することを見出した。準安定なペプチドファイバーから、光照射で再形成した熱力学的に安定なファイバーへモノマーが供給されることが要因であることを明らかにした。これらを用いた、ユニークな光パターンニングとタンパク質パターンニングにも成功した。

本論文は上記の通り、多成分・非平衡という概念に基づいた新しい生物模倣型超分子ヒドロゲルの設計と機能開拓を行っており、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和4年1月17日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める

要旨公開可能日： [令和4年4月1日以降](#)