

様式 I

博士学位論文調査報告書

論文題目

多糖を利用した色素の集積とその分光分析

---

申請者 戸畑 温子

最終学歴

平成 28年 3月

京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー基礎科学専攻博士後期課程  
(単位修得退学)

調査委員  
(主査)

京都大学大学院エネルギー科学研究科  
教授 佐川 尚

調査委員

京都大学大学院エネルギー科学研究科  
教授 片平 正人

調査委員

京都大学大学院エネルギー科学研究科  
教授 河本 晴雄

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	戸畑 温子
論文題目	多糖を利用した色素の集積とその分光分析		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、多糖を利用した色素会合体の光学的特性制御を調査したもので、6章からなっている。</p> <p>第1章は序論で、本研究で選択したムコ多糖の一種であるヒアルロン酸 (HA) の特性及び技術的課題を整理し、とりわけ水溶液中で水分子を介した水素結合により高次構造を形成し、その構造はX線回折により左巻きヘリックス構造であることと、HAの二次構造が、温度、pH、溶媒、イオン強度などによりコイル-ヘリックスの相転移を持つことを巧みに活用して色素の会合挙動と組み合わせ、光学的特性を制御することの意義を示すと共に、HAを他の機能性物質と組み合わせたがんの治療薬や診断薬の開発動向と意義を明示し、本論文の背景と取り組んだ技術的課題及び研究の目的を述べている。</p> <p>第2章では、アニオン性の多糖であるHAとカチオン性シアニン色素であるNK-77 (3,3'-Diethyl-9-methylthiacarbocyanine: DMTC)が形成する会合体の励起子相互作用について、pH = 7.0のリン酸緩衝液中で、可視吸収スペクトル及び円偏光二色性 (CD) スペクトルにより調査している。アキラルな色素であるNK-77がHA上でキラリダイマーを形成することが観測され、HA上に特別な結合部位が存在することが確認された。さらに、HA上の特別な結合部位は、温度や溶媒組成、HA濃度の変化により、二種類のキラリティーの異なるダイマーを形成させることを確認している。</p> <p>第3章では、HAとメチン基の長さが異なるシアニン色素 (3,3'-Diethylthiacyanine iodide : DTTHC, 3,3'-Diethylthiacarbocyanine iodide: DTC, 3,3'-Diethylthiadibocyanine iodide: DTDC) 会合体の特異的な相互作用について、pH = 7.0のリン酸緩衝液中でシアニン色素とHAを1:2の割合で混合し、その可視吸収スペクトル及びCDスペクトル測定により調査している。メチン基の長さが異なる3種類のシアニン色素の中で、DTDCが特異的にHA上でキラリティーを持つ会合体を形成することを明らかにし、HA上のDTDCのモノマーから会合体への変化は、DTDCの分散状態に起因するものであることを示している。</p> <p>第4章では、DTDCの会合体が分子量の異なるHAから受ける影響について、粘度の異なる4種類のHAを用いて調査している。5.0 vol%メタノール-緩衝液 (pH = 3.2) または純水中で、HA-DTDCが粘度依存性を示し、粘度の高いHA-Q上でDTDCの会合体形成量が最も多く、粘度の低いHA-N上でのDTDC会合体形成量が最も少ないことを確認している。</p>			

HA の CD スペクトルにより、HA のヘリシティは一定であることがわかり、HA 存在下での DTDC の会合体は、シアニン色素の分散力に依存することを示している。酸性条件下では、HA の添加により DTDC の 670 nm 付近の蛍光が消光し、より分子量の大きい HA の場合に消光が顕著に見られたことから、粘性の増加により、会合体の形成量が増加し凝集起因消光が進んだことを示唆している。

第 5 章では、基本骨格が異なるカチオン性のシアニン色素 (DTDC) 及びポルフィリン [ $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Tetrakis(1-methylpyridinium-4-yl)porphyrin *p*-toluene sulfonate: TMPyP] を用いて、HA 存在下での会合体の挙動を比較している。HA 濃度の増加により、DTDC 会合体の形成が抑制されないことが確認され、HA-DTDC は HA 上に静電的に相互作用した DTDC に DTDC が凝集することにより会合体を形成していることを示唆している。一方、HA-TMPyP では、HA の添加により TMPyP の Soret 帯に 3 nm の長波長シフトが見られ、蛍光強度の増加が確認されたことから、ポルフィリン同士の会合体と HA が相互作用するのではなく、単分子のポルフィリンと HA が相互作用すると考えられること及び TMPyP の振動運動が粘性を持つ HA の共存 (近接) により制限を受け、無放射過程が遅れることで蛍光強度が増大することを示唆している。以上のように、比較的柔らかくて立体的にもかさばらないカチオン性のシアニン色素とアニオン性多糖類 HA を組合せた場合と、比較的剛直で立体的にかさばるカチオン性のポルフィリンとアニオン性多糖類 HA を組合せた場合の相互作用について対比すると、それぞれ静電相互作用による複合体の形成は認められたものの、シアニン色素では色素の凝集と蛍光の消光が観測され、一方、ポルフィリンでは色素の孤立化と蛍光強度の緩やかな増大が見られ、2つの色素でそれぞれ異なる応答を示すことを明らかにしている。

第 6 章は結論であり、第 2 章から第 5 章までの研究成果を総括し、結論として要約すると共に、多糖を利用した色素会合体の光学的特性制御に関する知見は、バイオセンサーやがん治療のための効果的な色素選択や設計に関する指針を提言するのみならず、円偏光発光物質として 3D ディスプレイ用発光素子や光暗号システムなどへの応用が期待できるという将来の展望について述べている。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、アニオン性の多糖であるヒアルロン酸 (HA) 共存下、水溶液中でカチオン性色素の会合体を形成させ、温度や pH、溶媒比率、分子量、配合濃度等の変化に伴う光学的性質の変化を調べることで、色素会合体の形成制御を行った結果を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. アキラルなカチオン性シアニン色素 3,3'-Diethyl-9-methylthiacarbocyanine (DMTC) は、HA 共存下、キラリダイマーを形成し、HA に特異的な結合部位が存在することが確認された。さらに、温度や溶媒組成、HA 濃度を変化させることにより、キラリティーの異なる二種類のダイマー形成の優先度を制御できることを明らかにした。
2. HA とメチン基の長さが異なるカチオン性のシアニン色素 (3,3'-Diethylthiacyanine iodide: DTHC, 3,3'-Diethylthiacarbocyanine iodide: DTC, 3,3'-Diethylthiadibenzocarbocyanine iodide: DTDC) 会合体の相互作用について検討した結果、メチン基の長さが異なる 3 種類のシアニン色素の中で、DTDC が特異的に HA 上でキラリティーを持つ会合体を形成すること及び HA 上の DTDC のモノマーから会合体への変化は DTDC の分散力に連動することがわかった。
3. DTDC 会合体形成が分子量の異なる HA から受ける影響について、粘度の異なる 4 種類の HA を用いて調査した結果、色素の会合体形成は粘度依存性を示し、粘度の高い HA を用いると DTDC 会合体形成量が最も多く、粘度の低い HA では DTDC 会合体形成量が最も少なかった。HA 自身のヘリシティは一定であることから、HA 存在下の DTDC 会合体は、シアニン色素の分散力に依存することが示された。酸性条件下では、HA の添加により DTDC の 670 nm 付近の蛍光が消光し、より分子量の大きい HA の場合に顕著な消光が観測された。したがって、粘性の増加に伴う色素会合体形成量の増加による凝集起因消光の促進が示された。
4. カチオン性シアニン色素 DTDC 及びポルフィリン[ $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -Tetrakis(1-methylpyridinium-4-yl)porphyrin *p*-toluene sulfonate: TMPyP] を用いて、HA 存在下の色素会合体形成挙動を比較した結果、HA-DTDC の場合、HA 濃度が増加すると、DTDC 会合体形成が抑制されることなく、HA 上に静電的に相互作用した DTDC に遊離 DTDC が凝集することにより蛍光の消光が促進された。一方、HA-TMPyP では、HA の添加により、単分子の TMPyP と HA が相互作用し、誘起円偏光二色性の発現と蛍光強度の緩やかな増大が確かめられた。すなわち、2つの色素で HA に対してそれぞれ異なる応答を示すことが確認された。

以上、本研究は多糖を利用した色素会合体の光学的特性制御に関する指針を提言したものであり、バイオセンサーやがん治療のための効果的な色素選択、あるいは円偏光特性を活用したディスプレイ用素子などへの応用も可能であり、エネルギー科学分野の基礎から応用に至る広範囲での貢献が期待できる。

よって、本論文は博士 (エネルギー科学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 1 年 8 月 22 日実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。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。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降