

京都大学	博士（工学）	氏名	霍 文婷（HUO WENTING）
論文題目	Leveraging Photo-induced Isomerization of π -Conjugated Molecules for Bioimaging and Drug Delivery（バイオイメーシングおよびドラッグデリバリーにおける π 共役分子の光誘起異性化の応用に関する研究）		
（論文内容の要旨） 本論文では、π 共役分子の光誘起異性化による物性変化や構造変化を基盤とする、バイオイメーシング用のプローブや薬物送達用の機能性分子の開発に関する研究成果が述べられており、序論と本論 5 章からなっている。 序論では、五種類の光誘起異性化とそれぞれの代表的な分子について述べられている。特に、これらの異性化反応のバイオイメーシングおよびドラッグデリバリーにおける応用について概説しており、デュアル応答性プローブと光制御型ドラッグデリバリーシステムの開発が必要であることを提起している。 第 1 章では、励起状態分子内プロトン移動（ESIPT）を起こす部位を二か所持つビピリジン骨格に着目して開発したデュアル応答性プローブ βgal-BP-PMB について述べている。本プローブは 6,6'-ジメチル-2,2'-ビピリジン-3,3'-ジオール（BP）の 2 つのヒドロキシ基に β-D-ガラクトピラノシド（βgal）基および <i>p</i>-メトキシベンジル（PMB）基を結合させており、β-ガラクトシダーゼ（β-gal）活性および弱酸性環境に応答する。β-gal の過剰発現は卵巣癌細胞の重要な特徴であり、関連する癌細胞を検出するための β-gal 応答性プローブの開発は盛んに行なわれている。しかし、老化細胞においても β-gal は過剰発現しており、これまでに開発された β-gal 応答性プローブでは卵巣癌細胞を検出する際に老化細胞からの偽陽性応答が検出される可能性があった。老化細胞ではリソソームの pH 値が上昇することから、β-gal 活性および弱酸性環境の両方を同時に検出できるデュアル応答性プローブ βgal-BP-PMB は、老化細胞と卵巣癌細胞を区別して検出できることが示されている。また、ターゲットとした生体内刺激に対して高い感度と有意な応答比率を示すことから、βgal-BP-PMB は β-gal 活性と pH 値を定量できることも明らかにした。複数の分析対象を正確に同時追跡できるデュアル応答性プローブの分子設計は、今後生体イメーシング分野において優位性が高いと考えられる。 第 2 章では、ESIPT の原理を利用したデュアル応答性プローブ B-BP-M の開発について述べている。プローブ B-BP-M では、BP の 2 つのヒドロキシ基に 4-ピナコラートボリルベンジル（B）基および <i>p</i>-メトキシベンジル（M）基を結合させており、生体内活性酸素種の一つである過酸化水素（H_2O_2）および pH 変化に応答する。B 基の H_2O_2 による脱離速度は pH によって変化し、プローブ B-BP-M の感度が向上することを見出した。共焦点レーザー顕微鏡観察において、プローブ B-BP-M が HeLa 細胞内の H_2O_2 濃度が高い領域を特定する機能を有することが示され、バイオイメーシングに十分応用できることが示された。			

京都大学	博士（工学）	氏名	霍 文婷（HUO WENTING）
第3章では、3-(3-ヒドロキシピリジン-2-イル)イソキノリン-4-オール (PiQ) の非対称な構造に由来する独特な ESIPT プロセスについて述べている。PiQ は、分子対称性をもつ 2,2'-ビピリジル-3,3'-ジオールとは異なり、凝集誘起発光特性を示すことも見出した。PiQ は、水溶液中で凝集体を形成し、その発光性が著しく増強されることを明らかにした。H_2O_2 応答性を示す 4-ピナコラートボリルベンジル基 (B) およびカルボキシルエステラーゼ応答性を示すアセチル基 (A) が PiQ に結合したプローブ B-PiQ-A を合成した。生細胞を用いた実験において内因性および外因性の H_2O_2 の検出に利用できることを明らかにした。 第4章では、テトラフェニルエテン（tetraphenylethene: TPE）の光誘起異性化による構造変化を利用して帯電分子の膜貫通輸送を実現する新手法について述べている。オリゴヌクレオチドのように高極性な帯電分子が細胞膜を介して細胞質内に入る際の障壁に対処するために、TPE の光誘起異性化による構造変化を利用して細胞膜中のリン脂質分子の凝集を緩め、帯電分子の細胞内輸送を促進できることが提案されている。TPE の骨格にイオン化可能な親水基と親油性のアルキル鎖を導入することで、細胞膜に付着する分子 TPE-C8-N を合成した。DFT 計算と MD シミュレーションを実施し、光照射下での TPE-C8-N の分子運動とリン脂質二重層との相互作用が存在することを示している。また、比較分子を活用して、イオン化可能なアミノ基と親油性の柔軟なアルキル鎖の両方が細胞膜付着化に不可欠であることを明らかにした。親油性のアルキル鎖を伸長すると、輸送効率が向上するが、水溶性が著しく低下し、凝集を引き起こすことも見出した。 第5章では、光照射下ねじれた構造へと変化する TPE-C8-N を利用することにより、帯電したサイズの異なる分子の細胞内送達効率が促進されることが述べられている。光照射下、TPE-C8-N の平面からねじれた構造への変化は、細胞膜に恒久的な損傷を与えることなく細胞膜が連続的に擾乱することを示した。低温実験によって、TPE-C8-N を用いる細胞内送達法がエンドサイトーシスに依存しないことを明らかにした。さらに、TPE-C8-N を用いる手法が、ペプチドやオリゴヌクレオチドなど、分子量が 1000 から 5000 Da の大きな帯電分子の細胞内送達を効率的に促進できることも実証した。 以上のように、本論文は、光誘起異性化によりもたらされる分子の物性変化や構造変化を深く探求し、バイオイメージングや薬物送達において未達であった新しい生体応用について多くの知見を得たものである。本研究で得られた成果は、学術的に重要な知見を与えるとともに、実用的なデュアル応答性プローブと薬物送達システム開発に新たな方向性を示すものである。			

(論文審査の結果の要旨)

本学位論文は、 π 共役分子の光誘起異性化による物性変化や構造変化を基盤とするバイオイメーキング用プローブや薬物送達用の機能性分子の開発に関する研究成果をまとめたものである。主な成果の概要は以下の通りである。

1. 励起状態分子内プロトン移動 (ESIPT) に関与する部位を二か所持つビピリジンに着目して開発したデュアル応答性プローブ **β gal-BP-PMB** について述べている。 **β gal-BP-PMB** は、老化細胞と卵巣癌細胞を区別できる他に、 β -ガラクトシダーゼ活性と pH 値を同時に定量できるプローブであることを明らかにした。
2. ESIPT の原理を利用したデュアル応答性プローブ **B-BP-M** の開発について述べている。**B-BP-M** は、生体内活性酸素種の過酸化水素 (H_2O_2) および pH 変化の検出を可能にした。
3. ESIPT 分子である 3-(3-ヒドロキシピリジン-2-イル)イソキノリン-4-オール (**PiQ**) に基づく分子プローブの開発について述べている。**PiQ** は、ESIPT 特性を示すだけでなく、凝集誘起発光特性も示すことを明らかにした。 H_2O_2 およびカルボキシルエステラーゼ応答性を示すプローブ **B-PiQ-A** が生細胞内における内因性 H_2O_2 の検出に利用できることを立証した。
4. テトラフェニルエテン (TPE) の光誘起異性化による構造変化を利用して帯電分子の膜貫通輸送を実現する新手法について述べている。TPE 骨格に親水基と親油性のアルキル鎖を導入することで、細胞膜に付着する分子 **TPE-C8-N** を開発した。他の誘導体分子との比較により、親水基と親油性のアルキル鎖の両方が **TPE-C8-N** の細胞膜付着化に不可欠であることを明らかにした。
5. 光照射下ねじれた構造へと変化する **TPE-C8-N** を利用することにより、正または負に帯電したサイズの異なる分子の細胞内送達効率が向上することを述べている。**TPE-C8-N** を用いる手法が、分子量が 1000 から 5000 Da の大きな帯電分子を細胞内に効率的に送達できることを明らかにした。

以上要するに、本論文は、光誘起異性化によりもたらされる分子の物性変化や構造変化を深く探求し、バイオイメーキングおよび薬物送達における新たな知見を得たものであり、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 6 年 9 月 20 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、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、京都大学学位規定第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の前文を代えてその内容を要約したものとすることを認める。