

審査の結果の要旨

氏名 坂田 翔

バイオマテリアル工学や、細胞工学、再生医療、医療産業の更なる発展の為には、マテリアルと生体環境が接する界面において進行する生体応答の正確な理解、高度な制御が求められる。特に、マテリアル表面へのタンパク質の吸着は一連の生体応答の中で極初期に誘起される反応であり、吸着タンパク質層の特性が以降の生体反応を決定づける因子となる点で重要である。本研究は、マテリアル表面で働く分子間相互作用力という観点からタンパク質吸着現象を定量的に理解し、タンパク質吸着を回避・制御するポリマーバイオマテリアルの表面設計指針を提示することを目的としている。具体的には、表面の構造・特性を任意に規定することが可能なポリマーブラシ層をモデル表面とし、原子間力顕微鏡(AFM)を用いたナノフォース解析を基に表面で働く様々な力の違いがタンパク質吸着に与える影響を系統的に検討している。

本学位請求論文は6章から構成されている。

第1章では、タンパク質吸着を理解・制御することの重要性や課題など本研究の背景や意義とともに、研究目的を達成するために重要な要素となるプラットフォームとしてのポリマーブラシ表面、測定手法としてのAFMの有用性について述べ、これらを統合した研究戦略を示している。

第2章では、分子間相互作用力とタンパク質吸着挙動の関係を正確に理解するための明確な構造・特性を有するモデル表面としてのポリマーブラシ表面の設計と、その構造・特性について述べている。表面開始型原子移動ラジカル重合法により双性イオン性の 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)、カチオン性の 2-trimethylammoniumethyl methacrylate (TMAEMA)、アニオン性の 3-sulfopropyl methacrylate (SPMA)、疎水性の *n*-butyl methacrylate (BMA)を用いてポリマーブラシ表面を系統的に構築し、一連の表面解析より、各モノマーユニットの化学構造を反映した物理化学的表面特性を有する均一な高密度ポリマーブラシ層が構築されていることが示されている。

第3章では、AFMによるナノフォース解析を基に、ポリマーブラシ表面で働く様々な分子間相互作用力について議論している。ポリマーブラシ層修飾 AFM プローブを用いた同種ポリマーブラシ表面間のフォースカーブ測定から、カチオン性の poly(TMAEMA)ブラシ表面、アニオン性の poly(SPMA)ブラシ表面では静電的相互作用のみ、疎水性の poly(BMA)ブラシ表面では疎水性相互作用のみが生じ、双性イオン性の poly(MPC)ブラシ表面ではこれらの相互作用が生じないなど、系統的なポリマーブラシ表面の利用により表面固有の相互作用を明確に分離できることを明らかとしている。また、タンパク質固定化 AFM プローブを用いたフォースカーブ測定より、表面の相互作用とタンパク質の特性に応じた表面-タンパク質間の相互作用力が働くことを定量的に示し、静電的・疎水的な相互作用が表面からのタンパク質の

接触後の脱離を妨げる力としての役割を果たしていることを見出している。

第4章では、ポリマーブラシ表面におけるタンパク質吸着挙動と、分子間相互作用力との関係について定量的に記述している。双性イオン性の poly(MPC) ブラシ表面ではタンパク質吸着が劇的に抑制されるが、静電的・疎水的な相互作用を生じる poly(TMAEMA) ブラシ表面、poly(SPMA) ブラシ表面、poly(BMA) ブラシ表面では高いタンパク質吸着量となり、表面-タンパク質間の相互作用力の強さとタンパク質吸着量に正の相関があることを明らかにしている。さらに、表面に吸着したタンパク質の高次構造変化を測定し、吸着過程における二次構造の変化について定量的に示している。これらより、表面-タンパク質間の強い相互作用力がタンパク質の可逆的な脱離を妨げることによりタンパク質の構造変化が生じ、ひいては高い吸着量に繋がることを見いだしている。さらに、タンパク質吸着の抑制には、双性イオン性ポリマーのように、タンパク質と接触した後のナノレベルの相互作用を誘起しない表面の設計が重要であると結論している。

第5章では、前章までに確立された方法論や知見を応用し、カチオン性の TMAEMA ユニットとアニオン性の SPMA ユニートを種々の比率で混合した二元系の混合電荷ポリマーブラシ表面について記述している。すなわち、混合電荷ポリマーブラシの組成を制御することで、表面の静電的相互作用の強さを連続的に調整できることを示している。表面の静電的相互作用力の強さとタンパク質の電荷特性に対応した表面-タンパク質間の相互作用力とタンパク質量が観測され、特に、カチオン性ユニットとアニオン性ユニットを等量で有する表面では相互作用が生じず、タンパク質の吸着が抑制されることを見出している。すなわち、本研究による新規方法論の有用性を広げるとともに、タンパク質吸着抑制における双性イオン構造の有効性を裏付けている。

第6章は、本研究の総括である。ポリマーブラシ表面と AFM ナノフォース解析を融合したシステムはタンパク質吸着現象に新しい定量的な解釈の仕方を付与できることを示し、これを基盤として分子間相互作用力の観点からタンパク質吸着プロセスを記述し、タンパク質吸着の抑制に向けた新しい概念を提示している。

本研究は、マテリアル界面で生じる細胞・組織との反応や生体応答の制御が強く求められる医療デバイス開発において、その原因となるタンパク質吸着を規定するマテリアル表面の設計と評価に向けた新しい方法論を提案し、バイオマテリアル工学を通して医療産業分野に大きく貢献すると評価できる。

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。