

審査の結果の要旨

氏名 波多野 淳一

多数の非共有結合を複合的に利用した多点相互作用は、抗体による抗原の選択的な認識等に見られるように、生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしている。生医学分野においても、多点相互作用の概念は標的に強く結合する薬剤開発等に利用できるものとして注目を集めてきた。しかし多点相互作用を発揮する多価性高分子を実際に生体内で用いるには、非対象組織への無差別な相互作用による副作用をいかに防ぐかということが大きな課題となっていた。本論文では、多価性高分子を位置選択的に作用させる方法論として、単価性モノマーを *in situ* で光重合するという新手法を提唱しており、その実証及び応用に関する研究について述べられている。

第一章では、まず生物学的プロセスにおける多点相互作用の役割を紹介した上で、多価性高分子の生医学分野における応用可能性について詳述している。さらに、多価性高分子を位置選択的に構築し対象に作用させる方法論として、これまでに報告されている例を概念的に大別して解説し、本研究で提唱した新たな方法論との比較を行っている。

第二章では、生体直交型光重合を用いた多価性高分子の位置選択的な合成について述べている。この概念を実証するために用いる分子として、まず光反応性部位としてテトラゾールとオレフィン、対象組織との相互作用部位としてグアニジニウムイオンを有する単価性モノマーを設計・合成している。グアニジニウムイオンは種々のオキシアニオンに対して塩橋を形成するため、これを多数有する高分子はオキシアニオン表面に対して多価的に接着する分子糊として働く。テトラゾールとオレフィンの光誘起反応は蛍光性のピラゾリンを与える生体直交型反応として知られるが、水溶液中ではテトラゾールへの光照射によって生じるニトリルイミン中間体への水付加が競争的に起こるため、これまで重合反応としてはほとんど使用されていなかった。著者は本章において、水溶液中希釈条件下でもオキシアニオン基質の存在下では、開発されたモノマーが

一価の弱い塩橋を介してオキシアニオン表面に動的に濃縮され、光照射をトリガーとして多数のグアニジニウムイオンを有する分子糊ポリマーへと重合されることを見出している。一方バルクの水溶液中ではモノマーは水付加体となり失活するため、ポリマーの生成及び接着はオキシアニオン表面上の光照射部位で高度に位置選択的に起きると述べている。実証実験として、オキシアニオン表面のモデルとなるシリカを用いた光重合反応を行っており、サイズ排除クロマトグラフィー及び質量分析によって重合の進行を確認している。続いて種々の被修飾ラテックス粒子を用いて光重合の分光学的な分析を行っている。また多数のリン酸イオンを有する生体高分子である DNA もこの光重合を促進することを見出しており、電気泳動実験によって、重合による分子糊の接着力の増大を示している。さらに DNA 固定化基板を用いて、生体高分子表面での分子糊ポリマーの位置選択的な合成・接着のデモンストレーションを行っている。

第三章では、前章で開発された方法論の培養細胞系への適用について述べており、位置特異的な蛍光修飾及び細胞死誘導に成功している。まず上述の単価性モノマーを含む培地で培養したヒト肝臓がん細胞に紫外光照射を行うと、細胞から分子糊ポリマーのピラズリン部位に由来する蛍光が見られることを共焦点レーザー顕微鏡で確認している。この結果は培養細胞系においても、細胞のオキシアニオン性基質によってモノマーの光重合が促進されることを実証するものとなっている。またトリパンプルーを用いた蛍光消光法により、生成した分子糊ポリマーが細胞に内在化していることが示されている。さらに細胞生存率試験によって、分子糊ポリマーが細胞死を引き起こすことを確認している。紫外光照射自体は細胞生存率に影響しなかったことから、生成した分子糊ポリマーが細胞の生物学的機能に影響を与え、生存率を低下させたと述べている。

以上、本論文において、著者は多価性高分子を位置選択的に作用させるための新たな方法論として *in situ* での単価性モノマーの生体直交型光重合を提唱し、この概念が実現可能であることを実験的に証明した。モノマーと対象組織との動的な相互作用が、本方法論を実現する鍵となっており、基礎化学的に興味深い知見を提供するものである。さらに著者は実際にこの方法論を培養細胞系に適用し、位置特異的な蛍光修飾及び細胞死誘導を実現した。これらの成果は、今後の多価性化合物の医学的応用に新たな指針を提供する意義深いものであり、当該分野の発展に大きく貢献するものであると考えられる。

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。