

審査の結果の要旨

氏名 李响

ゲルやポリマー溶液などの高分子網目構造内での物質の動的挙動は、対象物質と網目の物理的な相互作用により、自由溶液中での挙動と大きく異なる。そのユニークな動的挙動は、ゲル電気泳動、サイズ排除クロマトグラフィー、薬物の徐放化や細胞培養など、実に様々な分野で利用されている。ゲル電気泳動はこれらの応用の中でも最も歴史が古く、主に DNA などのポリ電解質のサイズ分離に利用されている。高分子網目構造内では、一般的に DNA は鎖長の増加にしたがって、移動度（移動しやすさの指標）が低下する。移動度は鎖長に対して、鎖長が短い時は指数関数的に減少し、鎖長が長くなると冪関数的に減少し、鎖長が十分に長いと最終的には移動度は鎖長に依存しなくなる。これらの 3 つの見かけ上の領域に対して、対応するモデル (Ogston model, Reptation model, Stretched reptation model) が作られている。これらのモデルは、移動度と鎖長の関係性を定性定期には説明できているが、これらのモデルに従わない実験結果も多く報告されている。理論と実験結果の齟齬の解消を試み、既存モデルに修正を加えたモデル (Modified Ogston model, Constraint release model) や新たな泳動挙動を提示したモデル (Entropic trapping) が考えだされてきたが、いまだに実験結果を十分に説明できるには至っていない。

高分子網目構造内での物質の泳動挙動の更なる理解を得るためには、DNA の鎖長だけでなく、高分子網目構造の構造パラメーターであるポリマー体積分率 (ϕ) や架橋点間重合度 (N) を系統的に調整して実験を行う必要がある。しかし、既存のゲルは反応制御の難しさから、一般的には不均一な網目構造を有す。これに対して、著者は近年所属研究室で開発された均一な網目構造を有するゲル (Tetra-PEG ゲル) を用いることで対処できると考えた。著者はこの均一な網目構造を有するゲルを電気泳動の分離媒体へ応用し、系統的に構造パラメーターを調整することにより、均一高分子網目構造内における DNA の電気泳動挙動を詳細に調査した。

第一章では、著者は高分子の一本鎖の物性、ポリマー溶液及びゲルの物性とその違い、自由溶液中でのポリ電解質の拡散挙動・電気泳動挙動（拡散係数と移動度の関係、Rouse model、Zimm model）、高分子網目構造内でのポリ電解質

の拡散挙動・電気泳動挙動（自由体積理論、流体力学理論、障害物理論、Reptation理論など）、既存理論の限界及び既存の網目構造の問題点、Tetra-PEG ゲルの基本的な物性、そして最後に本研究の目的について詳細かつ述べた。

第二章では、著者は Tetra-PEG ゲルを電気泳動の分離媒体へ応用すべく、ゲルの作製及び泳動で用いる緩衝液の調整を試みた。通常 Tetra-PEG ゲルの作製に用いられる緩衝液（リン酸系）は電気伝導度が高く、また電気泳動で一般的に用いられている緩衝液（Tris 系）は一級アミンを持つため、Tetra-PEG ゲルのゲル化反応を阻害した。そこで、著者は Tris の代替品として、化学構造が似ているが、一級アミンを持たない BisTris 系の緩衝液を調整したところ、ゲル化阻害反応を示さない低電気伝導度の Tetra-PEG ゲルに適した泳動液の調整に成功した。当緩衝液で作製された Tetra-PEG ゲル中で、二本鎖 DNA を分離したところ、20-1000bp の DNA マーカーをベースライン分離することができ、再現性も確認された。当ゲルと同様の ϕ や N を有するポリアクリルアミドゲルと分離能を比較したところ、Tetra-PEG ゲルの方がより高い分離能を示した。網目構造の均一化によって分離能が向上することが示唆された。

第三章にはまず、高分子網目構造内での電気泳動理論（Ogston model, Biased reptation model など）、網目構造とポリ電解質の移動度の関係に関する理論や既往研究の実験結果などが合わせて紹介されている。続いて、著者は系統的にゲル及びポリマー溶液の網目構造を調整し、その中で鎖長の異なる DNA を系統的に調整して行った実験結果を紹介した。当実験で用いられた二本鎖 DNA は 150bp 程度持続長をもち、150bp 以下では rod、150bp 以上では coil のようなコンフォメーションを取ることが知られている。この DNA のコンフォメーションまたゲルやポリマー溶液の網目構造に依らず、移動度は ϕ の指数関数であることが確認された。更なる解析の結果、移動度が鎖長のベキ関数項と鎖長の指数関数項の積で表されることも発見された。既存モデルと比較した結果、ベキ関数項で見られた2つのベキは Rouse model と Reptation model にそれぞれ類似しており、ベキ関数項は網目構造内での基本的な泳動様式を示している可能性が強く示唆された。一方で、指数関数項はエントロピーを考慮したモデルと同様な関数系を示したため、指数関数項の中身は高分子網目構造内を泳動する際に DNA が感じるエントロピー障壁に関連する可能性があると考えられる。

以上の研究で、著者は均一網目構造を有する新たな分離媒体の創成に成功し、また、高分子網目構造内での物質の動的挙動を包括的に説明できる理論を提案しており、バイオマテリアルの応用・学術に対して重要な貢献をしたと言える。

よって本論文はバイオエンジニアリング専攻の博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。