

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	生体分子からなる球状および環状構造体のナノエンジニアリングおよびその構造変換の観察
Title(English)	Nanoengineering of Spheres and Rings Made from Biological Molecules and Observation of Their Structural Transformations
著者(和文)	今村元紀
Author(English)	Motonori Imamura
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9727号, 授与年月日:2015年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山口 雄輝,工藤 明,徳永 万喜洋,小島 英理,上野 隆史
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9727号, Conferred date:2015/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	今村 元紀	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	山口 雄輝	教授	上野 隆史	教授
	審査員	工藤 明	教授		
		徳永 万喜洋	教授		
小島 英理		教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Nanoengineering of Spheres and Rings Made from Biological Molecules and Observation of Their Structural Transformations (生体分子からなる球状および環状構造体のナノエンジニアリングおよびその構造変換の観察)」と題し、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) を用いて、環状のタンパク質が直径1.4nmの金ナノ粒子 (GNPs) を加えることで球状構造へと構造変換する過程の解明を目指した研究、および、小さな環状DNA上にGNPs (直径約14nm) を配列させることを目指した研究が行われ、4章から構成されている。これら2つの研究は当初、金属ナノ構造体を従来の手法に代わる生体分子の自己組織化能を用いた手法 (バイオナノ) で作製することを目標としていた。

第一章「Introduction」では、本研究内容に関する背景知識が説明されている。従来のトップダウン法 (均一で大きな物質から目的の小さな構造を削りだすリソグラフィ法) の限界が示され、目的のナノ構造に自己集合によって構築する生体分子を用いたボトムアップ法 (小さな構成ブロックを積み上げることでナノ構造を構築する手法) の有用性が述べられている。また、こうした生体分子のナノ構造の観察手法やHS-AFMについて説明されている。環状の構造をした生体分子を鋳型とし、粒径に応じて異なる性質を持つGNPsを環状に配列することで、可視光領域の光に対して自然界には存在しない物性をもつ物質を創造できる可能性が述べられている。

第二章「High-Speed AFM Observation of Protein Structural Transformation」では、金ナノ粒子添加によるタンパク質構造変化に関する研究が述べられている。先行論文で、好熱菌由来の安定性の高い環状タンパク質TRAP (Trp-RNA binding attenuation protein) の特定のリシン残基をシステインに変異したK35C変異体は、1.4nmの金ナノ粒子によって大きな中空の球状構造 (TRAP-cage) へと構造変化することが示されている。その報告でTRAP-cage形成の条件検討等が行われたが、この前例のない現象のメカニズムについて未解明の点が多々あるため、球状構造の詳細や構造変化のメカニズムの解明を目指してHS-AFMを用いた研究を行ったことが述べられている。環状構造のTRAP-K35C、球状構造のTRAP-cage、共にHS-AFM像はTEMやX線結晶構造から予想される構造と一致していることが示され、さらにHS-AFM像にフーリエ変換およびガウスフィルタによる画像処理を加えることでTRAP-cage表面の詳細な構造が明らかとなり、TRAP-cageが環状のTRAP-K35Cの集合によって構築されていることが示されている。構造変化の過程を解析するため、HS-AFMによるTRAP-K35Cの観察中に金ナノ粒子を添加したところ、マイカとタンパク質の相互作用のため球状への構造変化は見られず、代わりに環状タンパク質間のサブユニットが組み替わるようにして凝集する様子が観察された。同じ1.4nmのAu₅₅コアを持ち、異なる表面電荷を持つ金ナノ粒子でも同様の凝集が観察されたことから、金ナノ粒子の触媒様反応によって引き起こされたジスルフィド結合の形成が構造変化の原因であると予想している。また、TRAP-cageもジスルフィド結合により構築されていることを予想し還元剤DTTを加えたところ、貝殻が開くように球状構造が分解され、分解直後は不規則な構造をしていたが、時間とともに元の環状構造に戻っていく様子が示されている。これらの観察結果から、金ナノ粒子の添加によって、タンパク質はコンフォメーションを変えながら新しい球状構造へと変化することが予想されている。タンパク質の構造変化を高い時空間分解能で捉えることが可能なHS-AFMで観察を行った結果、TRAP-cageの構造の詳細を示したのみならず、環状から球状への構造変化のメカニズムに関する具体的な予想を立てることが可能となったことが指摘され、今後、TRAP-cageをドラッグキャリアとして応用する上で有用な情報が得られた、と述べられている。

第三章「Nanoengineering of DNA Minicircles As a Template for Gold Nanoparticles」では、環状のDNAを鋳型にして金ナノ粒子を配列する研究が述べられている。6つのssDNAから構成される168bpのDNA minicircle (DNA-MC) が鋳型として用いられている。ライゲーションによってニックを取り除いているため、環状のタンパク質で見られたように金ナノ粒子の添加によって構造が変化しないことが予想される。DNA-MCを構成するssDNA上にリンカーを介して14nmのGNPsを付加する方法が用いられている。また、GNPsはTurkevich-Frens法を用いてクエン酸で還元することで合成され、PEGアルカンチオールによって安定化されている。GNPsを付加したDNA-MCは、電気泳動において金ナノ粒子やDNA-MCとは異なる移動度を示し、金ナノ粒子がDNAに付加されたことが示唆されたが、SEMによる観察では設計した構造があまり見られず、高効率にGNPsをDNA-MCに付加するためには反応条件のさらなる検討が必要であることが述べられている。

第4章「Conclusions and Perspective」では、2章と3章の内容のまとめと展望が述べられ、生体分子をナノテクノロジーへ応用するバイオナノサイエンスの難しさと、さらなる生体分子の理解とそのための分析・観察技術の重要性が考察されている。

以上を要するに、本論文はHS-AFMを用いてタンパク質の構造変化を高い時空間分解能で捉え、タンパク質構造の詳細や構造変化の過程に新たな知見をもたらし、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。