

	と が し た か な り	
氏 名	富 樫 貴 成	
授 与 学 位	博 士 (工 学)	
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 0 年 3 月 2 5 日	
学 位 授 与 の 根 拠 法 規	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項	
研 究 科 、 専 攻 の 名 称	東 北 大 学 大 学 院 工 学 研 究 科 (博 士 課 程) 化 学 工 学 専 攻	
学 位 論 文 題 目	水 熱 条 件 下 で の 環 状 ジ ペ プ チ ド と ナ ノ 粒 子 の 自 己 組 織 化 に よ る バ イ オ - 無 機 ハ イ ブ リ ッ ド 構 造 体 の 創 成	
指 導 教 員	東 北 大 学 教 授 阿 尻 雅 文	
論 文 審 査 委 員	主 査 東 北 大 学 教 授 阿 尻 雅 文 東 北 大 学 教 授 猪 股 宏 東 北 大 学 教 授 垣 花 眞 人	

論 文 内 容 要 旨

第 1 章 緒 論

物質をナノサイズにまで微細化することで、バルク状態とは異なる物性を発現する。近年では、ナノ粒子そのものの物性だけでなく、ナノ粒子と高分子のハイブリッド材料や、異種ナノ粒子の自己秩序化体についても研究が進められている。また、ナノ粒子の自在な構造化を達成することで、一種類の材料では達成できない相反機能を持つ材料や、負の屈折率を有するメタマテリアル等、自然界には存在しない物性の発現が見出されている。

ナノ粒子の構造化に半導体デバイス作成に用いられているフォトリソグラフィによるトップダウン的手法が使われているが、この方法での小型も 2010- 2015 年には 30 nm の限界に到達することが予測されている。近年、これらトップダウン式の加工法に加えボトムアップ式のナノ構造体形成法の研究・開発が盛んに行われている。当研究室では、自己組織化によるボトムアッププロセスの中でも生物分子を用いたナノ材料のアセンブリ技術に注目している。生体分子の多様な構造形成・特異的な親和性をナノ材料のアセンブリ技術に応用すれば自在なナノ粒子のアセンブリ技術、プログラムドアセンブリが達成できると考える。しかし、生体分子を用いプログラムドアセンブリ技術を達成するためには様々な機能を有する生体分子が必要となる。

本研究では自己組織化ペプチドの構造形成とそれを利用した金属酸化物ナノ粒子配列法に着目した。

金属酸化物にアミノ酸修飾を行えば自己組織化ペプチド上に配列できる可能性を検討した。アミノ酸表面修飾金属酸化物ナノ粒子合成、ペプチド合成、その自己組織化を同時に行ない One-pot アセンブリ技術の可能性を検討し、これらの視点での研究を進めると共に、自己組織化環状ジペプチド水熱合成の反応経路を明らかにし、各反応を速度論的に評価することで最適な合成条件を設定した。

第 2 章 既往の研究

本章では、本研究に関係のある既往の研究について調査し、本研究の位置付けと意義を明らかにした。

まず、自己組織化ペプチドの構造形成に関する研究を調査・整理し、自己組織化ペプチドの基礎的な性質、形態制御法を把握した。その結果、自己組織化ペプチドの構造形成にはペプチドが持つアミノ酸配列(一次構造)を制御することでペプチドが形成する形態を制御できることがわかった。次に、ペプチドと無機材料のハイブリッド化に関する研究について調査・整理した。(1)ペプチドと無機材料を融合させ構造体上へナノ材料を配列させる手法は、ペプチド構造体上でナノ材料を合成し融合する手法、(2)無機材料を表面修飾し配列分子化することで自己組織化ペプチドとの融合を行う手法に分類することができた。(1)の手法では構造体の安定性を考慮し低温で無機材料の合成を行う必要があるために貴金属材料への応用のみであった。また、(2)の手法では無機材料の表面修飾法がナノ粒子合成後、金-チオールの結合により表面修飾反応を行っている。両手法ともに配列する材料は貴金属に限定されており、目的とするプログラムドアセンブリ技術を達成するためには、貴金属以外の材料にも適用できる技術が必要となることを指摘した。

次に、自己組織化ペプチドに対する無機材料の配列分子化を達成するための必要な技術である無機材料への生体分子・有機分子表面修飾法に関する研究の調査・整理した。この結果、生体分子の無機ナノ材料表面修飾法はチオール基を用いた金属ナノ粒子への直接結合や、シランカップリング剤を用い結合

させた官能基に対して有機合成的手法で生体分子を固定化させる手法等が用いられていた。これらの手法では表面修飾前のナノ粒子が不可逆的な凝集を引き起こすことが問題となる。金属酸化物ナノ粒子合成と同時に有機分子表面修飾を行う in-situ 金属酸化物表面修飾法が必要であることを述べた。

次に、ペプチド・アミノ酸の高温高压水中での安定性・反応性に関する研究を整理した。生命の起源に関する研究が進められており、アミノ酸は 200°C 付近の比較的低温条件では安定に存在しうること、水縮合反応によりペプチドの合成も進行することがわかっており、アミノ酸修飾ナノ粒子合成およびペプチドによるその配列の可能性が示唆される。

第 3 章 アミノ酸表面修飾金属酸化物の合成

本章では、水熱合成法による金属酸化物に対するアミノ酸の表面修飾を試みた。その際に使用したアミノ酸は自己組織化ペプチドとして知られているジフェニルアラニン(FF)の構成アミノ酸であるフェニルアラニン(L-Phe)を用いた。また無機材料として磁性材料であるマグネタイト(Fe_3O_4)を選択した。

まず、反応温度とアミノ酸表面修飾量について検討を行った。その結果、220°C 以下であればアミノ酸が分解反応の寄与も小さく有効な修飾が可能であることを確認した。

次に、有効な修飾反応が進行した 200°C、22MPa において Fe_3O_4 が正電荷を持っている場合にはカルボキシル基が負電荷、 Fe_3O_4 が負電荷を有する場合にはアミノ基が正電荷を持っている条件で表面修飾反応が効果的に進行することを見出した。さらに、L-Phe の濃度を増大させる毎に表面修飾量が増大した、さらに表面修飾量と共に粒子の形状が球状から針状へと変化することを見出した。この形状変化は L-Phe が吸着した面の成長が抑制された結果と考えている。

第 4 章 マグネタイト環状ジペプチド自己集合体の合成

本章では、まず L-Phe 表面修飾 Fe_3O_4 の自己組織化ペプチド FF 上への配列について検討した。その後、水熱合成法を用いた自己組織化ペプチドの合成について検討し、最終的に水熱条件下での金属酸化物ナノ粒子-自己組織化ペプチドの複合化を行った。

初めに第 3 章で合成した L-Phe 表面修飾 Fe_3O_4 を用いて FF ワイヤと複合化を試みた。その結果、耳修飾の Fe_3O_4 では複合化されなかったのに対し、L-Phe 表面修飾 Fe_3O_4 のみ FF ワイヤ上への配列が確認できた。

そこで、ペプチド水熱合成法を用いた自己組織化ペプチド合成について検討した。その結果、水熱反応場によって L-Phe は脱水縮合し環状ジフェニルアラニン(cFF)を生成し、ワイヤ状構造体へと自己組織化することを見出した。さらに、このワイヤ状の構造体は cFF の中心骨格であるジケトピペラジンの水素結合を駆動力としてワイヤ状構造体へと自己組織化することが示唆された。

次に、cFF ペプチド合成条件に Fe_3O_4 の原料を添加し、cFF の自己組織化を利用した cFF- Fe_3O_4 構造体の One-pod 合成を試みた。その結果、 Fe_3O_4 を 5wt% 含むワイヤ状の構造体の合成に成功した。赤外分光光度計により、合成された構造体の支持体は cFF により形成されていることを確認した。また高温高压可視化セルを用い、反応溶液の観察を行ったところ、200°C、22MPa の高温高压水中で、cFF の結晶が析出している様子が観察された。この結果は、 Fe_3O_4 と cFF の複合化は反応条件である 200°C、22MPa の条件で行われていることを示している。

第 5 章 cFF 水熱合成の反応経路の決定と反応条件の最適化

本章では、cFF ペプチドを高収率・高選択的に合成する反応条件の設定を試みた。

まず、水熱反応で合成される全生成物を同定した。L-Phe の水熱反応により、cFF の他に脱水反応により生成する FF、L-Phe の脱炭酸反応により生成するフェニルエチルアミン(PEA)が守勢生物として得られた。次に生成物である FF を出発原料とした実験を行なった、その結果 cFF の他に加水分解により合成される L-Phe、PEA が得られた。一方、目的生成物である cFF を出発原料として用いた実験も行なったが顕著な反応は見られなかった。以上の生成物分布の経時変化から本系の主反応経路は、L-Phe から分子間の脱水縮合反応と脱炭酸反応が競争反応で進行し、FF が分子内脱水反応で直ちに cFF になることを明らかにした。比較実験としてアラニンの水熱反応実験を行なった。反応経路は環状アラニンの加水分解反応の進行以外はフェニルアラニンと同じであり反応速度定数もほぼ同一であった。cFF で加水分解反応が見られなかったのは 4 章で述べたように cFF が反応場で固体として析出するためであると考えている。

cFF の収率および選択率を向上させるには、並列副反応である L-Phe の脱炭酸反応の抑制が重要である。そこで、それぞれの反応における濃度依存性の検討を行った。濃度を上げることで二次反応である L-Phe から FF への脱水縮合反応が一次反応である脱炭酸反応と比較して優位に進行した。またアレニウスプロットにより、脱水縮合反応と加水分解反応の温度依存性も評価した。脱水縮合反応の活性化エネ

ルギーは 103.02 Kcal/mol で脱炭酸反応の活性化エネルギー182.13 Kcal/mol より低く、低温条件で脱水縮合反応がより優先的に進行することがわかった。以上のことから、高濃度、低温で反応を進めることで cFF が高選択率・高収率で得られる事を明らかにした。

第6章 総括

本章では、本論文を総括した。本研究では、設計通りのナノ材料集積・配列技術の開発を最終目的として、自己組織化ペプチドの構造形成能を利用した金属酸化物ナノ粒子配列法を行った。まず、水熱反応を用いてアミノ酸を金属酸化物表面へ修飾することで、自己組織化ペプチドが形成するワイヤー状構造体上への配列に成功した。その後、表面修飾法と同条件で L-Phe から cFF が合成されることを示し、cFF が自己組織化する分子であることを見いだした。最後に、水熱環境中で金属酸化物-cFF ハイブリッド構造体を One-pod で合成する手法を確立した。

論文審査結果の要旨

近年、材料をナノサイズ化し、さらに構造化することでバルク材料だけでは得られない機能発現することが見いだされている。ナノ材料の構造化を自在に行うことができれば自然界にはない材料物性や相反機能等の作成も期待される。ナノ材料の自在なアセンブリを達成するためには生体分子の特異的な分子間相互作用と構造形成が必要である。本論文では、自己組織化ペプチドを利用したナノ粒子配列法に研究の焦点を当てたもので、全6章から構成されている。

第1章では、研究の背景と目的について述べた。

第2章では、既往の研究についてまとめ本論文の意義と位置づけを明確にした。

第3章では、水熱合成反応場を利用したフェニルアラニン(L-Phe)のマグネタイト(Fe_3O_4)への表面修飾について検討した。L-Pheのカルボキシル基およびアミノ基の反応条件での解離と Fe_3O_4 表面の電位を考察し、それぞれ反対の電荷をもつ温度、pH条件下で表面修飾反応が効果的に進行することを見出した。

第4章では、水熱反応を利用した自己組織化ペプチドの合成、およびL-Phe表面修飾 Fe_3O_4 との同時合成による環状ジペプチド- Fe_3O_4 ハイブリッド構造体作成法を提案した。水熱反応場によってL-Pheは脱水縮合し、環状ジフェニルアラニン(cFF)を生成し、さらにワイヤー状の構造体へと自己組織化することを見いだした。また、cFF合成条件に Fe_3O_4 の原料を添加することで、cFF- Fe_3O_4 ワイヤー状ハイブリッド構造体のOne-pod合成に成功している。他の金属酸化物のハイブリッド化にも同条件で成功しており、本手法の汎用性の高さを示した。

第5章では、cFFを高収率で得るための反応条件について検討した。まず、反応にともなう生成物分布の変化から、L-Phe水熱反応の主反応経路を明らかにした。目的の脱水縮合反応と並列して脱炭酸反応が進行していることを示した。さらに速度論的な解析を行い、その結果より低温・高L-Phe濃度の条件で目的の脱水縮合反応が優先的に進行することを示した。

第6章は総括であり、本論文で得られた結果をまとめた。

水熱反応場でのアミノ酸表面修飾ナノ粒子合成とペプチドの自己組織化を融合させることで、金属酸化物ナノ粒子のアセンブリ技術を確立した。本手法は、ナノ粒子配列法として汎用性が高く、また低環境負荷なプロセスでもあり工学的に大きな価値がある。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。