

氏名	小山 哲夫
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記号番号	博理工乙第184号
学位授与年月日	平成22年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	クラスター型分子群の構築と評価に関する研究
論文審査委員	委員長 教授 照沼 大陽 委員 教授 西垣 功一 委員 准教授 石丸 雄大 委員 准教授 松岡 浩司 委員 教授 新井 達郎（筑波大学大学院）

## 論文の内容の要旨

### 序論

我々の周囲にある物質や現象を理解する際に基本となるのは「分子」である。生命の源であるDNAであっても一つの巨大な分子であり、この機能を解き明かすことにより生命現象そのものが明らかとなってくる。

分子というものの性質を調べる際に考慮しなければならないのは、分子は常に「集合体として存在」し、お互いに「分子間力」を及ぼしあっているという事実である。これら「集合体」の現象を理解する際のキーワードが「クラスター」である。クラスター（cluster）は本来葡萄などの「房」を意味する言葉であるが、この集合体の現象を適切に表現していると言える。後に示す細胞表層上の糖鎖のように、局所的に同じ分子構造が存在するような事象が次々に発見され、これらのような場合に於いても「クラスター状態」「クラスター構造」とよばれるようになった。

本論文は単分子（低分子）から高分子までの様々なクラスターを構築し、評価を行なった研究について述べたものである。

### 研究内容

#### 1. 分子クラスターの構築とその観測

7-azaindole という分子がある（図1）。蛍光性を持つこの分子は、その濃度によって蛍光スペクトルが変化するということが知られている。NMR 他の観測結果から、図2のように2分子の会合体を形成していると推測されていたが、このことを直接的に観測した例はこれまでなかった。

筆者は通産省工業技術院（現・産業技術総合研究所）の液相クラスター分析装置を使用して7-azaindole の会合体、つまり「分子クラスター」の形成について検討を行った。その結果、アセトニトリル溶液中の7-azaindole は2分子の会合体を1つの単位とし、それが積み重なって自己組織化して安定化しているために「奇数個の7-azaindole 分子クラ

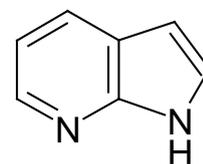


図1. 7-azaindole の分子構造

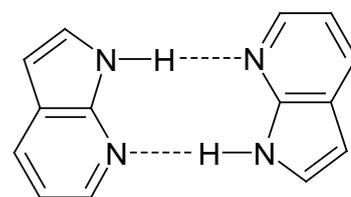


図2. 会合体を形成する7-azaindole のモデル

スター」よりも「偶数個の 7-azaindole 分子クラスター」の方がより安定に存在していることが示唆された。その他に、溶液にメタノールを添加した場合や quinoline とのクラスター、さらには indole と quinoline 間の分子クラスターに関する検討も行った。それらの結果から、以下のような事柄が明らかとなった。

- ・ 2 分子の会合体は分子間の水素結合によって生じている
- ・ 自己組織化には分子間水素結合の数よりも分子間で NH $\cdots$ N の水素結合を形成しているかが重要
- ・ 芳香環同士の相互作用でクラスター化が進む

これらを明らかにした後、7-azaindole と同様の光応答性物質である azobenzene をクラスター化した分子に関して検討を行った。

## 2. 糖鎖クラスターの構築と評価

細胞表面には多数の糖鎖が存在しているが、ウイルス感染の場合に見られるように、糖鎖—タンパク質間に起こる認識反応は両者の密度が高くなるほど強く起こることが知られており、このように糖鎖密度の高い状態を「糖鎖クラスター」、また糖鎖クラスターによって糖鎖認識反応に変化が現れることは「糖鎖クラスター効果」と呼ばれる。

糖鎖クラスターを実現する方法には dendrimer や直鎖状ポリマー、さらには微粒子などがあるが、本論文では合成の容易な直鎖状ポリマーについて検討を行った。今回合成した分子はポリマー側鎖が 2 つに分岐しており、より多くの糖鎖分子をクラスター化できるように設計した (図 3)。ラクトースを修飾して末端が 2 分岐したアクリルアミドモノマーを合成した後に重合反応を行ない、生成した水溶性高分子に対して分子量測定を行った。

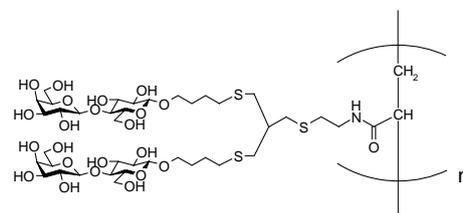


図 3. 直鎖型糖鎖クラスター

## 3. 光応答性 dendrimer の合成と評価

アゾベンゼン (azobenzene) は 2 つのベンゼン環が N=N の二重結合で結ばれた分子であり、光や熱を加えると相互に異性化することが知られている (図 4)。アゾベンゼンを dendrimer という枝分かれ構造をもった高分子の末端にクラスター化をすると、先の異性化によって dendrimer 全体の大きさが変わる可能性がある (図 5)。カルボシラン dendrimer 上にアゾベンゼンを導入した分子を合成し、その物性について検討を行った。

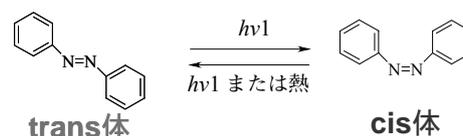


図 4. アゾベンゼンの異性化

異なる世代の dendrimer 末端にアゾベンゼンを導入し、光異性化前後の吸収スペクトルおよびゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) におけるリテンションタイムを測定した。とくに分子サイズを検出する GPC の結果から、光異性化の前後で分子サイズが変化していることが示唆された。他に dendrimer 上のアゾベンゼンの熱異性化結果から、分子末端の構造に関する知見を得た。

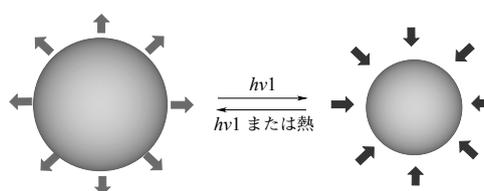


図 5. dendrimer の分子サイズ変化

## 論文の審査結果の要旨

本論文は比較的小さな分子量を有する7-アザインドールを中心とした分子クラスター生成のマススペクトルによる観測・実証、および、高分子に糖鎖あるいはカルボシランデンドリマーにアゾベンゼンを導入した高分子クラスター化合物の合成とその物性評価に関するものである。以下、その内容に関する審査結果要旨について記載する。

### 1. 分子クラスターに関する研究

我々の周囲にある物質や現象を理解するには「分子」の性質を十分に理解することが求められる。また、分子の性質を調べる際に考慮しなければならないことは、分子は単独に分子として存在するだけでなく、分子が互いに相互作用する「分子間力」を及ぼしあって集合体を形成している場合が存在するという事実である。これら「集合体」の現象を理解する際のキーワードが「クラスター」である。

7-アザインドール (図1) は天然に存在する化合物であり、蛍光性を持つこの分子は、その濃度によって蛍光スペクトルが変化するということが知られている。7-アザインドールはそのNMRの観測結果から、図2のように2分子の会合体を形成していると推測されていたが、このことを直接的に観測されたことはなかった。

筆者は通産省工業技術院 (現・産業技術総合研究所) の液相クラスター分析装置を使用して7-アザインドールを用いて直接会合体の検証を試みた。その結果、偶数個の7-アザインドール会合体が複数個つながった分子クラスターに由来する分子イオンピークが奇数個つながった分子イオンピークよりも常に強いピークとして現れることを見いだした。このことから、アセトニトリル溶液中の7-アザインドールは2分子の会合体を1つの単位としそれが積み重なってクラスターを形成して安定化しているために「奇数個の7-アザインドール分子クラスター」よりも「偶数個の7-アザインドール分子クラスター」の方がより安定に存在していることが示唆された。さらに、溶液にメタノールを添加した場合、7-アザインドールとキノリンの分子クラスター、さらにはインドールとキノリン間の分子クラスターに関する検討を行った。

それらの結果から、以下のようなことを明らかとしている。

- ・ 2分子の会合体は分子間の水素結合によって生じている。
- ・ 会合体形成には分子間で  $\text{NH}\cdots\text{N}$  の水素結合を形成していることが重要である。
- ・ 分子クラスターの形成は芳香環同士の相互作用で進行する。

### 2. 糖鎖クラスターの構築と評価

細胞表面には多数の糖鎖が存在しているが、ウイルス感染の場合に見られるように、糖鎖-タンパク質間に起こる認識反応は両者の密度が高くなるほど強く起こることが知られており、このように糖鎖密度の高い状態を「糖鎖クラスター」、また糖鎖クラスターによって糖鎖認識反応に変化が現れることは「糖鎖クラスター効果」と呼ばれる。

糖鎖をクラスター化する方法としてこれまでデンドリマー、直鎖状高分子あるいは微粒子などを用いる方法が検討・報告されているが、本研究ではより高密度に糖鎖をクラスター化する新たな手法を確立するため

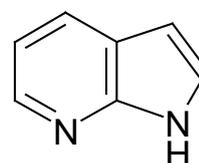


図1. 7-アザインドール

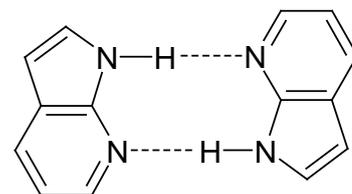


図2. 7-アザインドールの会合体モデル

合成の容易な直鎖状ポリマーについて検討を行っている (図3)。すなわち、アクリルアミドポリマーに2分岐した側鎖を導入することにより、糖鎖をより高密度に導入することを目的として分子設計を行った。具体的にはラクトースを修飾して末端が2分岐したアクリルアミドモノマーを合成し、その重合反応を行なった。その結果ポリスチレン換算で8万ほどの分子量を有する高密度糖鎖クラスターアクリルアミドポリマーを得た。

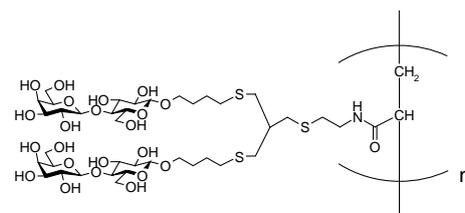


図3. 高密度に糖鎖を担持した糖鎖クラスター

### 3. 光応答性カルボシランデンドリマーの合成と評価

アゾベンゼン (azobenzene) は2つのベンゼン環がN=Nの二重結合で結ばれた分子であり、光や熱を加えると相互に異性化することが知られている (図4)。一方、近年多分岐方の構造を有するデンドリマーの応用研究が数多く報告されている。カルボシランデンドリマーは中性で多彩な分子構造を分子設計することが可能であることが知られている。

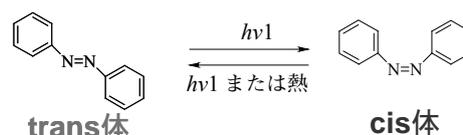


図4. アゾベンゼンの異性化

本研究ではこれらアゾベンゼンをカルボシランデンドリマーの末端に導入することによってアゾベンゼンのクラスター化を試みている。筆者は世代の異なるカルボシランデンドリマーおよび同世代で末端数が異なるデンドリマーをそれぞれ合成し、それぞれのカルボシランデンドリマー表面にシアノアゾベンゼン誘導体を導入できることを実証した。さらに、第2世代カルボシランデンドリマー表面に導入したトランス-シアノアゾベンゼン誘導体に光照射してシス-シアノアゾベンゼン誘導体とした。両者のゲルパーミネションクロマトグラフ (GPC) 測定によりトランス-シアノアゾベンゼン誘導体がシス-シアノアゾベンゼン誘導体よりも大きな分子となることを実証した (図5)。

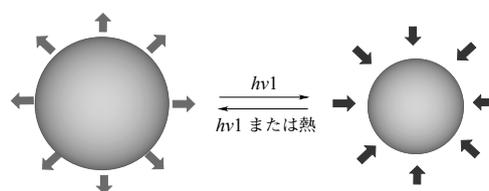


図5. デンドリマーの分子サイズ変化

また、カルボシランデンドリマー末端に24個および36個のシアノアゾベンゼンを有する化合物についてNMR測定を行い後者のシアノアゾベンゼン誘導体の熱異性化が遅くなる理由が、それらがより密集していることに由来することを見いだした。

これらの本論文記載の内容が小山哲夫氏を筆頭著者として3報およびその他同氏の氏名が記載された参考文献が22報公表されていることを確認した。以上の結果を踏まえて本論文は博士(工学)に相応しい内容であると判定した。