

論文内容の要旨

博士論文題目

Hydroxyapatite Deposition on Polypeptide under a Condition Mimicking Body Environment

(体液類似環境におけるポリペプチド表面での水酸アパタイト形成)

氏名

竹内 あかり

(論文内容の要旨)

骨は、主に水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)とコラーゲンで構成されている。この構造に倣ったハイブリッドは、新規な骨組織修復材料として期待されている。このような材料を調製するプロセスとして、体液に類似した水溶液を用いるバイオミメティック法が報告されている。このプロセスでは、基板表面に存在する官能基が水酸アパタイトの不均一核形成を誘起することが不可欠な条件になる。これまでに、カルボキシル基などのある特定の官能基が、体液類似環境において有機高分子基板表面での水酸アパタイトの不均一核形成を誘起すると報告されている。しかし、それら官能基の配置と水酸アパタイトの核形成の関係は未だ明らかにされていない。そこで本論文では、体液類似水溶液を用いて、天然のタンパク質ならびに合成ポリペプチドの表面での水酸アパタイトの形成を調べ、官能基の配置と水酸アパタイトの関係の解明に取り組んだ。

まず、生糸由来のセリシンおよびフィブロインを表面に有する繊維を対象に選び、体液類似水溶液中における水酸アパタイトの形成を調べた。その結果、体液類似水溶液中におけるセリシンのアパタイト形成能がフィブロインのそれよりも高い現象を見出し、その原因がセリシンの含有するカルボキシル基の濃度が高いためであると推定した。次いで、体液類似水溶液中におけるセリシン表面の水酸アパタイト形成を、異なる条件で調製したセリシンのフィルム状試料について調べた。その結果、調製条件によりセリシンの二次構造が変わると、それに依存して水酸アパタイトの形成能が異なることを見出し、 β シート構造を多く含むときに高い水酸アパタイト形成能を示すことを明らかにした。この結果から、水酸アパタイトの核形成現象は、タンパク質中のカルボキシル基濃度だけでなく、その二次構造に大きく依存することを明らかにした。さらにこの知見を基に、 β シート構造を多く含むポリペプチドの化学合成を試み、 $\text{poly}(\text{LE})_3\text{LG}$ と $\text{poly}(\text{FE})_3\text{FG}$ の組成を持つ合成ポリペプチドが、体液類似水溶液中で、高い水酸アパタイト形成能を示すことを明らかにした。これらのポリペプチドが高い水酸アパタイト形成能を示したのは、カルボキシル基が高密度で配列している構造を有しているため、もしくは、カルボキシル基の配列間隔が水酸アパタイト結晶のカルシウムイオン配列に近くエピタキシャルな結晶生成

を誘起できたためであると結論した。

以上のように、本論文は、体液類似水溶液中において、天然のタンパク質や合成ポリペプチドの表面で水酸アパタイトが生成する際に、カルボキシル基の濃度だけでなく、配置が重要な役割を果たすことを実験的に確証したものである。この知見は、体内で起こるミネラル化現象の解明、および体液類似水溶液を用いた有機高分子-水酸アパタイトのハイブリッドの設計に対して重要な指針を与えるものと言える。

(論文審査結果の要旨)

水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)と有機高分子からなるハイブリッドは、新規な骨組織修復材料として期待されている。従来、体液に類似した水溶液を用いたバイオミメティックプロセスで、この種のハイブリッドを開発する研究が試みられてきた。このプロセスでは、基板表面が水酸アパタイトの不均一核形成を誘起する官能基を持つことが必須である。これまでの研究で、カルボキシル基などが水酸アパタイトの核形成を誘起すると報告されていた。しかし、それらの官能基が水酸アパタイトの不均一核形成に寄与する機構については、未だ明らかになっていない。本論文は、カルボキシル基を含有するタンパク質や合成ポリペプチドを対象にして、体液類似水溶液中での水酸アパタイト析出を調べ、水酸アパタイトの形成に寄与する分子構造の検討を行ったものである。水酸アパタイトの析出現象を調べるタンパク質として、まず生糸に含まれるセリシンやフィブロインを選択し、次いで調製方法の異なるセリシンの薄膜を用い、さらに合成ポリペプチドの表面での水酸アパタイトの形成を調べた結果を論じている。これらの結果に基づいて、官能基の配置と水酸アパタイトの関係を基礎的に検討し、以下のような重要な知見を得ている。

- 1) カルボキシル基を多く含むセリシンは、体液類似水溶液中で水酸アパタイトを形成するのに対し、カルボキシル基をほとんど含まないフィブロインは水酸アパタイトを形成しない現象を見出した。天然のタンパク質表面でも、カルボキシル基が体液類似水溶液中で水酸アパタイトの核形成を誘起することを明らかにした。
- 2) 調製条件の異なるセリシンの薄膜を作製し、その構造と体液類似水溶液中での水酸アパタイト形成の関係を調べた。その結果、セリシンの薄膜は β シート構造を多く含むときに高い水酸アパタイト形成能を示すことを明らかにした。
- 3) β シート構造を多く含む合成ポリペプチド4種を合成し、それらの水酸アパタイト形成能について体液類似水溶液を用いて調べた。その結果、 $\text{poly}(\text{LE})_3\text{LG}$ と $\text{poly}(\text{FE})_3\text{FG}$ からなるフィルムが、高い水酸アパタイト形成能を示すことを明らかにした。これは、カルボキシル基が高密度で配列していること、もしくはカルボキシル基の配列が水酸アパタイト結晶中のカルシウムイオンの配列に近いこと、が水酸アパタイトの核形成を誘起したためであると結論した。

以上のように、本論文は、体液類似水溶液を利用して、ポリペプチド表面のカルボキシル基が水酸アパタイトの核形成する機構を基礎的に解明している点で有意義な研究である。さらにこれらの知見は、体液類似水溶液を用いた有機高分子-水酸アパタイトのハイブリッドを創成するバイオミメティックプロセスに重要な指針を与えるものであり、これらの分野を先導する重要な内容を有している。よって、審査員一同は、本論文が博士(工学)の学位論文として価値あるものと評価し、審査結果を合格と認めた。