



Title	Biological fabrication of silica-based hybrid materials using silica-polymerizing enzymes [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Maheem Bandara Mudiyansele, Kasun Shameera Godigamuwa
Citation	北海道大学. 博士(工学) 甲第14685号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/83268
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Kasun_Godigamuwa_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(工学) 氏名 Kasun Shameera Godigamuwa Maheem
Bandara Mudiyansele

審査担当者 主査 准教授 中島 一紀
副査 教授 廣吉 直樹
副査 教授 川崎 了
副査 教授 渡慶次 学

学位論文題名

Biological fabrication of silica-based hybrid materials using silica-polymerizing enzymes

(シリカ重合酵素を用いたシリカハイブリッド材料の生物学的作製)

無機-有機ハイブリッド材料は、無機と有機の両方の性質を兼ねそろえた先端材料であり、電子産業、エネルギー分野、水処理、バイオ医薬品など様々な分野で広く利用されている。シリカは物理的・化学的安定性、生体適合性、低毒性のため、無機-有機ハイブリッド材料のマトリックスとして有望な材料の一つである。現在、生体分子をシリカあるいは有機マトリックスに固定化した高機能性を示す新たな無機-有機バイオハイブリッド材料の開発が注目されている。しかしながら、従来のシリカ合成やシリカコーティング法では、高温や酸・アルカリなどの厳しい pH 条件や毒性の高い化合物を使用する必要であり、固定化される酵素などの生体分子や生細胞に与える影響が大きい。

海綿動物の骨針の構造に関する研究において、シリカを温和な条件下で生成することが可能なシリカチンと呼ばれる酵素が発見されている。しかし、シリカチンは水溶液中で凝集する性質があり、これがシリカチンの応用を妨げている。これまでの研究により、この凝集性の問題は可溶性タンパク質の融合によって解決できることが分かっている。そこで本研究では、シリカチン、可溶性タンパク質、固体結合タンパク質からなる新規の界面配向性酵素をデザイン、生理条件下においてシリカ-バイオハイブリッド材料を作製した。

第1章では、研究背景、既往の研究、研究目的と本研究のオリジナリティについて述べた。

第2章では、セルロースを有機マトリックスとして用いたシリカ-セルロースハイブリッド材料の作製について検討した。セルロースは地球上で最も多く存在する多糖であり、化粧品、医薬品、ドラッグデリバリーシステム、再生医療などに用いられている。生体適合性を示すシリカとセルロースのハイブリッド材料を生物学的に作成する手法は、生体工学分野をはじめ、様々な分野へ応用できると考えられる。本章では、*Myxococcus xanthus* 由来の可溶性タンパク質 (ProS2) と *Clostridium thermocellum* 由来セルロース分解酵素の多糖結合モジュール (CBM) の2つのタンパク質をシリカチン (Sil) に融合した。ProS2 は Sil の溶解性を向上させ、CBM は Sil をセルロース上に固定化する役割を担う。ProS2 と CBM を融合した Sil 融合酵素 (ProS2-Sil-CBM) を大腸菌 *Escherichia coli* で発現し、変性条件下でアフィニティー精製を行った。融合酵素の溶解性、酵素活性、セルロース吸着性、セルロース上でのシリカ生成について調査した。融合酵素 ProS2-Sil-CBM は水溶液中で24時間以上可溶化した状態を保ち、CBM を融合していない ProS2-Sil と同様のシリカ重合活性を示した。ProS2-Sil-CBM は1.5時間以内にセルロースに吸着し、吸着した酵素によりセルロース上での

シリカの生成が確認された。

第3章では、キチンを有機マトリックスとしてシリカハイブリッドを作製した。セルロース同様、キチンも生分解性の天然高分子であり、農業、水処理・排水処理、化粧品等に应用されている。本章では、キチンとシリカのハイブリッド材料の作製を目的とした融合シリカテインのデザインを行った。シリカテインに融合したタンパク質は、可溶性の向上を目的とした *Pseudomonas syringae* 由来氷核タンパク質の親水性領域 (InakC) と、*Bacillus circulans* 由来のキチン結合ドメイン (ChBD) である。作製した融合シリカテイン InakC-ChBD-Sil の溶解性やシリカ重合活性を調査した。InakC-ChBD-Sil は ProS2-Sil と同程度の活性を示し、融合シリカテインが結合したキチンを用いてシリカ重合反応を行ったところ、キチン上でシリカの生成が確認された。

第4章では、前章までに得られた知見をもとに、シリカ-キトサンゲルハイブリッド粒子の作製を行い、そのゲル中にモデル酵素として西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) を固定化したシリカ-キトサンゲル-酵素からなる新規バイオハイブリッド材料を開発した。キトサンはキチンを加水分解したものであり、再生医療やドラッグデリバリーなどにも用いられている。また、ChBD はキチンと同様にキトサンにも結合することが分かっている。そこで、キトサン表面でシリカを形成する触媒として InakC-ChBD-Sil を用いて上記材料を作製した。キトサンゲルビーズを作製する過程で HRP をゲルマトリックスに固定化し、その後キトサン表面への InakC-ChBD-Sil の吸着とシリカ形成を行った。HRP の活性評価より、シリカに被覆されたキトサンゲルに固定化された HRP は活性を示すことが明らかとなった。この手法では、様々な酵素をシリカ-キトサンゲルに固定化できるため、本手法は環境工学分野やバイオメディカル分野へ応用できると期待される。

第5章では、各章で得られた研究成果を総括し、本研究の展望について述べた。

以上を要するに、筆者はシリカ重合酵素を用いることでシリカと天然高分子のハイブリッド材料の新たな作製方法を開発した。これは次世代型の環境浄化技術や新規バイオメディカル材料の開発に関して新たな知見を与えるものであり、環境バイオ工学の発展に貢献するところ大なるものがある。よって筆者は、北海道大学博士 (工学) の学位を授与される資格があるものと認める。