京都工芸繊維大学

	でぃあ　はめど　あぶでるしゃふぃ　あぶでるさらむ
氏　　名	DIAA HAMED ABDELSHAFY ABDELSALAM
学位(専攻分野)	博　士（工学）
学位記番号	博甲第 1127 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科　バイオベースマテリアル学専攻
学位論文題目	Preparation of DNA ion complex films and their antibacterial functions （DNA イオンコンプレックス膜の作製とその抗菌機能）
審査委員	（主査）准教授　青木　隆史 教授　櫻井　伸一 教授　谷口　育雄 准教授　丸林　弘典

論文内容の要旨

持続可能な人間社会を構築するために、天然素材を用いた構造材料や機能性材料の研究開発が国内外で広く試みられている。セルロースやフィブロインなどがその代表例であり、多糖類とタンパク質の素材化が特に検討されている。そうした研究動向の中で、DNA を天然素材として利用した研究も展開されている。DNA は、相補的な関係にある核酸塩基どうしが水素結合を介して塩基対を形成し２重ラセン構造の内側に位置している。その２重ラセン構造の主鎖には負電荷のリン酸ジエステル結合を有し、正電荷の化合物と静電的相互作用をする。この構造上の特徴は多糖類やタンパク質のそれらとは異なっていることから、DNA 固有の構造材料や機能性材料になることが考えられる。カチオン性の脂質やカチオン性界面活性剤と DNA とのイオンコンプレックスは透明なフィルムを与え、DNA の核酸塩基にはπ電子が含まれていることから、これを利用した非線形光学フィルムや導電性フィルムのエレクトロニクス関連の機能評価が、複数の研究機関で行われている。

申請者の研究では、DNA とカチオン性界面活性剤とのイオンコンプレックスを用いて、抗菌性評価を行った。私たちが日頃口にしているのど飴やマウスウォッシュの中に、カチオン性界面活性剤である hexadecylpyridinium chloride (HDPyCl), (慣用名: cetylpyridinium chloride (CPC)) が含まれており、この界面活性剤との DNA イオンコンプレックス (D-HPy ion complex) は可食性フィルムとなることが期待されることから、人体にも環境にも安全な機能性材料として、その構造、物性、そして抗菌性を調べた。また、対象 DNA イオンコンプレックスとして HDPyCl の代わりに hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMABr), (慣用名: cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)) を用いた DNA イオンコンプレックス(D-HTm ion complex)も調製した。これは、2 つの界面活性剤は、HDPy が pyridinium カチオン、そして HDTMA が trimethylammonium カチオンの異なる極性ヘッドグループを持っているが、非極性テール部分に同じヘキサデシル基（炭素数が 16）を持っている。

第 1 章では、溶媒キャスト法により 2 種類の DNA イオンコンプレックスフィルムを作成し、その構造と抗菌性を調べた。2 種類のフィルムは透明なフィルムで、DNA イオンコンプレックス

がヘキサゴナルな構造をとってフィルム内を構成していると考えられたが、小角 X 線散乱(Small Angle X-ray Scattering, SAXS）により D-HPy イオンコンプレックスフィルムのほうが DNA-DNA 間の距離が短く(41 Å, D-HTm は 43 Å)、乾式密度計よりそのフィルムの密度が若干高いことが分かった (D-HPy は 1.26 g cm^{-3} , D-HTm は 1.22 g cm^{-3} である)。全反射フーリエ変換赤外分光(Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared, ATR-FTIR)スペクトルからは、２つのフィルム内のヘキサデシル鎖が *gauche* 構造である一方、pyridinium カチオンのほうがアニオン性リン酸ジエステルと安定な相互作用をしていることが示唆された。2 種類のフィルムとも黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を発現することが分かったが、安定なアニオン−カチオン相互作用を形成している D-HPy ion complex フィルムの抗菌性が若干抑えられていた。

第 2 章では、この 2 つの DNA イオンコンプレックスフィルムをホットプレス法を用いて作成し、その構造、物性、そして抗菌性を調べた。温度と圧力をかけてフィルムを作成したが、透明なフィルムが得られ、それぞれの DNA イオンコンプレックスはヘキサゴナルな構造を取っていた。DNA-DNA 間の距離(41 Å)も密度(1.29 g cm^{-3})も 2 つのフィルム間では等しく、溶媒キャスト法で調製したフィルムとは異なる構造を示した。また、ATR-FTIR から、D-HTm フィルム内の DNA-DNA 間のヘキサデシル基は *all trans* 構造をとっていることが示された。このアルキル鎖が形成する領域に結晶性を示す結果が得られていないが、弱い trimethylammonium カチオンとリン酸ジエステルアニオンとの相互作用が、アルキル鎖の構造安定化をもたらした可能性がある。ホットプレス法では DNA イオンコンプレックスの粉末に加熱と加圧を同時に施しているが、得られた 2 種類のフィルムは、37℃、50%相対湿度下で、それぞれに固有の応力―ひずみ曲線(s-s 曲線)を示し、相対的に D-HPy フィルムは柔らかくて延性があり、D-HTm フィルムは固い物性を示した。また、これらの 2 種類のホットプレスフィルムも、黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を示し、安定なアニオン−カチオン相互作用を形成している D-HPy ion complex フィルムの抗菌性が若干抑えられる傾向を示した。

2 種類の DNA イオンコンプレックスを溶媒キャスト法とホットプレス法により調製した。これらは、同じ炭素数 16 のアルキル鎖を有する 2 種類のカチオン性界面活性剤を使って作成しているが、その構造や物性、そして黄色ブドウ球菌に対する抗菌性に差異が認められた。可食性であると考えられる D-HPy イオンコンプレックスフィルムは、医療分野や介護福祉関係の分野での天然素材からなる抗菌性材料として利用が期待できる。

論文審査の結果の要旨

Diaa Hamed Abdelshafy Abdelsalam 氏は、廃棄される鮭の白子に含まれる DNA を天然高分子素材であると見なし、その DNA を用いた機能性材料の調製とその評価を行った。全世界で蔓延した新型コロナウイルス感染症の経験から、新型コロナウイルスにも効果があると言われているカチオン性界面活性剤、hexadecylpyridinium chloride (HDPyCl), (慣用名: cetylpyridinium chloride (CPC)) をアニオン性である DNA の対カチオンとして利用した DNA イオンコンプレックス(D-HPy ion complex) を調製した。また、この D-HPy ion complex の対象試料として、

HDPyCl と同じヘキサデシル基（炭素数 16）をテール部に持つ hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMABr), (慣用名: cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)) を用いた DNA イオンコンプレックス(D-HTm ion complex)も調製し、これら 2 種類のフィルムの構造、物性、そして抗菌性についてまとめている。

D-HPy ion complex と D-HTm ion complex を、溶媒キャスト法とホットプレス法によりフィルムを成形した。溶媒キャスト法で得られた D-HPy と D-HTm フィルムは、同じヘキサデシル基であるにも関わらず DNA-DNA 間の距離とフィルムの密度が異なり、これらのことは、2 種類の界面活性剤の持つカチオン基の DNA のアニオン基への相互作用の強さや安定性の違いに起因しているとしている。DNA のリン酸ジエステル結合に対し、HDPy の pyridinium カチオンは安定した静電的相互作用をもたらし、HDTMA の trimethylammonium カチオンは弱くイオン対を形成していることにより、ヘキサデシル基間でのアルキル鎖の構造安定化に寄与しているとしている。これらのフィルムは、黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を示したが、イオン対の安定性の差異が、抗菌性の効果の差として表れていた。

ホットプレス法で得られた 2 種類のフィルムの DNA-DNA 間距離とフィルムの密度はほぼ等しく、その調製方法の圧力と温度が溶媒キャスト法で作成したフィルムの構造とは異なる構造をもたらしたものと考えられた。ホットプレスフィルムは、２種類とも抗菌性を発現したが、溶媒キャストフィルムの場合と同様に、イオン対の安定性の差異が、抗菌性の効果の差として表れていたことを明らかにしている。特に、D-HPy については可食性成分から構成されていることから、人体にとって安全なフィルムもしくは繊維となり、医療分野への応用を期待される。

本学位論文では、以下の 2 報が基礎論文となっている。これらは、査読審査のある科学雑誌に掲載され、ともに申請者の Abdelsalam 氏が筆頭著者である。二重投稿等の研究者倫理に反する行為のないことも確認した。

1) Diaa Hamed Abdelshafy Abdelsalam and Takashi Aoki, “Preparation of DNA ion complex films using a hot-press molding and their antibacterial functions”, *J. Fiber Science and Technology*, 79, 250-259 (2023).
2) Diaa Hamed Abdelshafy Abdelsalam, Rikako Yamakita, and Takashi Aoki, “Structures and antibacterial properties of DNA ion complex films consisting of different cationic surfactants with the same carbon number in their tails”, *J. Fiber Science and Technology*, 80, 50-63 (2024)