

審査の結果の要旨

氏名 室田和敏

機能性有機材料設計の方法論の一つに、機能性分子を望みの場所あるいは状態に配置するという手法があるが、多様な場への対応可能性や高い精密さもつより優れた配置手法の開発が求められている。一方、精密な分子設計に立脚した人工ペプチドの会合構造制御が近年盛んに行われ、ペプチド会合体の有機材料としての可能性が開けてきている。本論文では、このような背景から、ペプチド間の相互作用を利用した機能性分子の配置制御を行っている。

第1章は序論であり、まず、分子の配置を「 n 次元配置」、「特定場への分子配置」、「特定位置への単分子配置」へと分類し、それぞれについて概説している。次に、それらのうち本論文の研究対象であるヒドロゲル中へのタンパク質の固定化・放出、ならびに機能性分子の1次元配置に関して、その意義と既存の方法論を紹介している。次いで、ペプチド間相互作用に関連して、ペプチド一次構造と会合体の構造の関係や会合体の応用の現状について詳説している。最後に、本研究の目的について述べている。

第2章では、「特定場への分子配置」として、ペプチド間相互作用をヒドロゲル中へのタンパク質の固定化と放出に応用している。ペプチド間相互作用としてヘテロストランドコイルドコイル形成に着目し、いずれも28残基で塩基性の Lys に富んだ $1\alpha\text{K}$ ペプチドと酸性の Glu に富む $1\alpha\text{E}$ ペプチドを相互作用分子として設計している。分光学的測定から、両者は $8.8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ の会合定数で 1:1 の平行ヘテロストランドコイルドコイルを形成すること明らかにしている。次に、遺伝子工学的手法により $1\alpha\text{E}$ ペプチドを緑色蛍光タンパク質(GFP)の両末端に複合化した $1\alpha\text{E-GFP-}1\alpha\text{E}$ を、化学合成したN末端アクリロイル化 $1\alpha\text{K}$ ペプチドの共重合により $1\alpha\text{K}$ ペプチド含有ポリアクリルアミドゲルをそれぞれ調製して、水中で両者を混合するとタンパク質がゲル中に強く固定化されることを見出すとともに、この固定化が $1\alpha\text{K}$ と $1\alpha\text{E}$ の分子間相互作用に起因することを明らかにしている。次いで、 $1\alpha\text{K}$ もしくは $1\alpha\text{E}$ ペプチドを外部から添加することでコイルドコイルの交換によってゲル中からタンパク質を放出させられることを示している。さらに、GFP の N 末端のみにペプチド鎖を導入した $1\alpha\text{E-GFP}$ と C 末端のみの $\text{GFP-}1\alpha\text{E}$ と合わせて固定化速度が $1\alpha\text{E-GFP-}1\alpha\text{E} \approx 1\alpha\text{E-GFP} < \text{GFP-}1\alpha\text{E}$ の関係にあることを見出し、その理由について、

1 α E-GFP-1 α E は一方の 1 α E ペプチド部位でしか固定化されないため、ならびに GFP-1 α E は立体障害で平行コイルドコイル構造を形成しにくいと考察している。また、タンパク質の放出実験において 1 α E-GFP-1 α E/1 α K ペプチドの組み合わせのときに放出速度が他よりも遅いことを見出し、これも 2つの 1 α E ペプチドの一方のみが固定化に関与しているためと説明している。

第 3 章では、前章で見出した知見をもとに、2 段階脱離法を提案している。すなわち、最初に外部刺激に応答してペプチドが放出され、次いでこのペプチドが前章で述べた原理によりタンパク質の放出を促す系の構築を目指している。ボロン酸部位をもつヒドロゲル中にジオール修飾したペプチドを予め固定化させ、これとは別に GFP-1 α E を前章の方法で固定化したヒドロゲルを調製している。両者を水中に混在させて、そこに外部刺激としてグルコースを加えることで、ボロン酸-ジオールの交換反応によってペプチドがヒドロゲルから遊離、さらにそれが 1 α E-GFP の放出を促すことを実証している。

第 4 章においては、水中での共同的なペプチド間静電相互作用を、より高い精密性をもつ「一次元配置」の構築へと応用している。高い平面性をもつ分子である D,L-交互環状オクタペプチドは、多重水素結合により会合してチューブ状構造をとることが Ghadiri らにより報告されている。単純にこの分子に機能性基を導入しても隣接する環状ペプチド間での機能性基の相対位置が決まらないために精密な一次元配置を行うことは困難である。この問題を、環状ペプチド中の適切な位置に Lys および Glu を導入することで解決することを試みている。蛍光プローブとしてピレニル基を導入した環状ペプチド 2 種を、一方のものはピレニル基がペプチドナノチューブの同じ側になるように、他方ではピレニル基が互い違いに配列するようにそれぞれ設計している。両者について、透過型電子顕微鏡観察、赤外吸収スペクトル測定、限外濾過により固体状態、溶液中のいずれでもチューブ状構造を形成していることを明らかにしている。次に各種の分光学的測定により 2 種のペプチドナノチューブでピレニル基周囲の環境が大きく異なることを明らかにし、設計通りの分子集合体を形成しているものと考察している。

第 5 章では本論文を総括するとともに、今後の展望について述べている。

以上要するに、本研究を通じて筆者はペプチド間の協同的相互作用が高選択性、汎用性、精密性のある「配置」の実現に有効であることを示しており、この知見は、有機材料化学分野の発展に寄与するものと考えられる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。