

京都大学	博士 (工学)	氏名	上田 一樹
論文題目	Preparation and Characterization of Molecular Assemblies with New Morphologies Composed of Amphiphilic Helical Peptides (両親媒性ヘリックスペプチドを用いた新しいモルフォロジーをもつ分子集合体の調製と特性)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>本論文は、両親媒性ヘリックスペプチドを用いて調製した分子集合体について詳細に解析し、新規なモルフォロジーを有する分子集合体を構築するに至った研究結果をまとめたものであって、序論、5章および結論からなっている。</p> <p>序論では、本研究に至る歴史的な背景と目的、ならびに本研究の概要について述べている。</p> <p>第1章では、集合体モルフォロジーを形成する因子として構成分子のキラリティ(ヘリシティ)を検討している。これまでにナノチューブ構造の形成に構成分子のキラリティが強く影響することが報告されている。疎水性ヘリックスを有する両親媒性ペプチドは疎水部の乱雑な絡み合いが少ないため、疎水部のキラリティが分子配向および集合体の形態に直接大きく関わると考えられる。そこで本章では、疎水部にそれぞれ右巻きと左巻きのヘリックスを有する二種の両親媒性ポリペプチドを設計し、その単一組成と混合組成からなる集合体モルフォロジーを透過型電子顕微鏡観察により評価している。分子の親水部はサルコシン、疎水性ヘリックス部はロイシン、アミノイソ酪酸で構成し、ロイシンの光学異性体を用いるだけで分子のヘリシティを選択している。さらに、ヘリシティ以外、分子を構成する他の要素は同一であるため疎水部のヘリシティの集合体モルフォロジーへの寄与をシンプルに評価できる。これらの両親媒性ヘリックスペプチドを用いることで、単一組成からなる集合体はナノチューブ構造、混合組成からなる集合体はベシクル構造を形成することを明らかにしている。混合組成では、ペプチド同士がステレオコンプレックスを形成しており、それによりヘリシティが見かけ上キャンセルされ球状となることを説明している。</p> <p>第2章では、第1章にて調製したステレオコンプレックス膜から形成されるベシクルの膜融合能について評価している。ドラッグデリバリーシステムやナノリアクターなど様々な材料への応用においてベシクル融合能は魅力的な機能の一つである。疎水部ヘリックスを有するポリペプチドは膜流動性が期待できるため、ベシクル融合が可能であると考えられ、90℃以上において速やかにベシクル融合することが、蛍光共鳴エネルギー移動方法を用いた解析により実際明らかとなった。また、このベシクルを構成するステレオコンプレックス膜が89℃付近に相転移温度を持つことや80℃以下ではベシクル融合が進行しないことなどを明らかにし、相転移温度以上における膜流動性がベシクルの融合を誘導していることを見出している。</p> <p>第3章では、疎水性ヘリックス部の長さを変えた両親媒性ペプチドを用いてナノチューブ構造の制御を検討している。第1章と同様、親水部にサルコシン、疎水部にロイシン、アミノイソ酪酸を用いた分子を用いた。ロイシンとアミノイソ酪酸の交互配列鎖</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	上田 一樹
<p>長を化学合成により変えることで疎水性ヘリックスの長さを容易に制御することができる。このようにして設計した14量体、16量体、20量体の疎水性右巻きヘリックスを有する3種類の両親媒性ペプチドそれぞれと、12量体の左巻きヘリックスを有する両親媒性ペプチドを混合した集合体の形態を観察し、ヘリックス長部の長さの差分がナノチューブの構造に及ぼす効果を評価している。差分が2残基の場合では、大きな平面シートからなる曲率の小さいナノチューブ、4残基以上の差で、曲率が大きく長く伸長したナノチューブが形成されることを見出した。このことからステレオコンプレックスによる膜安定化と、ヘリックスが会合するときの隣り合うヘリックス軸のねじれ角とのバランスによって、チューブ構造が制御可能であることを明らかにしている。</p> <p>第4章では、複雑なモルフォロジーを持つ集合体の調製を検討している。第1章において単一組成の両親媒性ヘリックスペプチドはナノチューブを形成し、混合組成の場合にはステレオコンプレックス膜がベシクルを形成することを示している。この2つの膜を融合させることにより、複雑なモルフォロジーを有する分子集合体の形成を試みている。第1章で解析した両親媒性ヘリックスペプチド分子を用い、右巻きヘリックスの両親媒性ペプチドからなるナノチューブと、右巻きと左巻きヘリックスペプチドとのステレオコンプレックス膜を混合し、加熱処理することで互いに融合した丸底フラスコ型集合体の調製に成功した。金ナノ粒子とジスルフィド基を導入した右巻き両親媒性ペプチドを用いて集合体中におけるペプチド分子の局在する様子を解析し、二つの膜が相分離しながら1つの集合体を形成することで複雑な形態をとることを明らかにしている。また、最初から2種類のペプチドをその比率で混ぜておいて調製した場合においても丸底フラスコ型集合体が形成でき、複雑なモルフォロジーでありながら熱力学的に安定であることも見出している。相分離する膜が組み合わせり集合化する様子から、これをパッチワーク集合体と名付けている。</p> <p>第5章では、第4章の結果を受けて、パッチワーク集合体について更なる検討を加えている。パッチワーク集合体はナノチューブの開口部にベシクル集合体を疎水性相互作用にて融合させることで調製でき、この戦略を異なるナノチューブとベシクルの調製に試みている。その結果、太さの異なるペプチドナノチューブ、サイズの異なるペプチドベシクルを用いて同様の手法によりパッチワーク集合体を調製し、その形態やサイズにバリエーションを持たせることに成功している。また、一般的な両親媒性分子であるリン脂質を用いてもリン脂質膜を導入した丸底フラスコ型、ダンベル型のパッチワーク集合体の調製に成功し、パッチワーク集合体の可能性を広げた。</p> <p>最後に、結論では本論文で得られた成果について要約している。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、両親媒性ヘリックスペプチドを用いて調製した分子集合体について詳細に解析し、新規なモルフォロジーを有する分子集合体を構築するに至った研究結果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. 分子集合体のモルフォロジーを決める因子として、構成分子のキラリティ（ヘリシティ）を取り上げ、両親媒性ヘリックスペプチドを用いて、ヘリシティについて単一組成からなる集合体はナノチューブ構造、混合組成からなる集合体はベシクル構造を形成することを明らかにした。

2. ステレオコンプレックス膜から形成されるベシクルの膜融合能について、ベシクルが90℃で熱処理することにより融合することを見出した。また、このベシクルを構成するステレオコンプレックス膜が、89℃付近に相転移温度を持つことや、80℃以下ではベシクル融合が進行しないことなどを明らかにし、相転移温度以上における膜流動性がベシクルの融合を誘導していることを明らかにした。

3. 疎水性ヘリックス部の長さを変えた両親媒性ペプチドを用いて、ナノチューブ構造の制御の検討を行い、鎖長の差分が2残基の場合では、大きな平面シートからなる曲率の小さいナノチューブ、4残基以上の差分で、曲率が大きく、長く伸長したナノチューブが形成されることを見出した。直径や長さを設計したナノチューブの調製が可能であることを示した。

4. 複雑なモルフォロジーを持つ集合体の調製を検討した。二つの膜が相分離しながら1つの集合体を形成することで複雑な形態をとることを明らかにした。相分離する膜が組み合わさり集合化する様子からこれをパッチワーク集合体と名付け、新たな分子集合体調製の原理を示した。

5. 太さの異なるペプチドナノチューブ、サイズの異なるペプチドベシクルを用いて、パッチワーク集合体を調製し、その形態やサイズにバリエーションを持たせることに成功した。

以上要するに、本論文は、両親媒性ポリペプチドの疎水性ヘリックス部位を巧妙に設計し、異なるヘリシティを組み合わせることで、これまでにない多様なモルフォロジーを有する分子集合体の調製方法とその原理を明らかにした研究であり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成23年2月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。