

京都大学	博士（工学）	氏名	栗田 太一
論文題目	Studies on the Primary Structure of Cyclic Peptides on Their Supramolecular Assembly (環状ペプチドの一次構造が超分子構造形成に与える影響に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
自然界には、合成高分子では達成できない優れた機能や物性を持つタンパク質が多数報告されている。これらの機能や物性は階層構造を形成することで発現する。このようにポリペプチドは分子同士を非共有結合で集合させ超分子構造を形成することで、個々の分子を超えた機能を発現する可能性を秘めているが、超分子構造を人工的に構築するには、精密な分子設計が必要である。環状ペプチドはその環状トポロジーにより構造の自由度が制限され、特定のコンフォメーションに固定されやすいため、分子間・分子内相互作用を制御しやすい。さらに、環状ペプチドは複合体形成時のエントロピー損失が少ないため、特定の分子やイオンを認識するホスト化合物としても機能する。そのため、環状ペプチドを超分子集合体の構成要素として利用すると、自己組織化後に所望の構造を形成できる可能性が高まる。環状ペプチドが形成する超分子構造のうち代表的なものとして、環状ペプチド間の水素結合により構築されるチューブ状集合体であるペプチドナノチューブ(PNT)がある。環状ペプチドの一次構造に応じて PNT は様々な物性や機能を示すため、イオンチャネル、分子認識、有機電子材料、薬物送達など幅広い分野での応用が期待されている。環状ペプチドは PNT だけでなく、ホスト-ゲスト相互作用を利用することで超分子構造を形成できる。その代表例がロタキサンである。ロタキサンは環状分子が軸分子を貫通する構造を持ち、環状分子が軸分子上を自由に動くことができる。この動的特性を活かし、ロタキサンは分子機械や薬物送達、自己修復材料などに応用されている。ペプチドからロタキサンが合成できれば、従来のポリペプチドやタンパク質にはない熱的・化学的安定性や、動的特性を持つ新たなポリペプチドないしはタンパク質材料の開発が可能となる。 本論文は、環状ペプチドの一次構造を合理的に設計することで、環状ペプチドから単一 PNT とロタキサンの 2 つの新たな超分子構造を形成した結果をまとめたものであって、6 章からなっている。 第 1 章は序論であり、材料化学における環状ペプチドからなる超分子集合体の有用性について論じた。続いて、環状ペプチドの一次構造設計と、それにより得られる超分子集合体の構造・機能に関する世界的な研究状況と課題を概説した。これらを踏まえ本研究の目的を明示した後、得られた成果を要約した。 第 2 章では、ヘリックスペプチドを側鎖に導入した環状βペプチドを設計、合成した。通常、環状βペプチドからなる PNT は、ナノチューブに沿った双極子モーメントを有しているため、双極子-双極子相互作用により、PNT が凝集して PNT バンドル構造を形成する。そのため、正確に構造制御された PNT の構築は未だ報告されていない。一方で、ヘリックスペプチドは立体的に嵩高く、C 末端の部分電荷を有していることが報告されている。そこで、環状βペプチドの側鎖にヘリックスペプチドを導入することで PNT 間の相互作用を低減し、単一 PNT を構築した。また、圧電応答力顕微鏡測定により単一 PNT の圧電係数は 1.39 pm/V であり、PNT バンドルの圧電係数は 1.34 pm/V であることを明らかにした。この結果から、PNT の圧電特性は環状ペプチド骨格の変形によって引き起こされ、バンドル構造とは無関係であることを明らかにした。 第 3 章では、γ-ターン構造を形成する環状ペプチドである、プロリンとグリシンの交互配列 8 量体環状ペプチド(cyclo(PG)₄)が水素結合を介して一級アミンと複合体を形成することを見出した。この知見を活用し、cyclo(PG)₄ の環内部で一級アミンと求電子剤の求核アシル置換反応を行うアクティブテンプレート法により、完全にペプチドからなるロタキサンを初めて合成した。得られたロタキ			

サンの収率は 1.2%であった。 γ -ターン構造の影響を調べるために、 cyclo(PG)_4 のグリシンをサルコシンに置換した環状ペプチド cyclo(PX)_4 ($X = \text{サルコシン}$) を合成した。サルコシンは二級アミンであるため、 cyclo(PX)_4 は NH プロトンを持たず、 γ -ターン構造を形成しない環状ペプチドである。 Cyclo(PX)_4 を用いてロタキサンの合成を試みたところ、ロタキサンの収率は 0.043%と cyclo(PG)_4 と比較して著しく減少した。分子動力学計算により、 cyclo(PG)_4 のカルボニル酸素のうち、80.3%が環の中心方向に配向していたのに対し、 cyclo(PX)_4 のカルボニル酸素は 47.8%しか環の中心方向に配向していないことを明らかにした。これらの結果から、 γ -ターン構造の形成により、カルボニル酸素が環の中心方向に配向している構造を持つ環状ペプチドがロタキサン合成に適していることが示唆された。

第 4 章では、第 3 章で用いた合成法よりも高い収率でロタキサンを得るために、水素結合よりも強い相互作用である静電相互作用をロタキサン形成の駆動力として利用した。具体的には、カチオン認識能を有する環状ペプチド(cyclo(PG)_4)とアンモニウムカチオン部位を持つ軸分子から擬ロタキサンを形成し、続いて末端をキャッピングするスナッピング法により、環状ペプチドからなるロタキサンを合成した。キャッピング反応にアジドとアルキンのクリック反応を利用することで、擬ロタキサン中間体の解離を防ぐことで、ロタキサンの収率を 36%に向上させた。一方で、プロリン誘導体である (*R*)-2,2-dimethylthiazolidine-4-carboxylic acid ($\text{C}(\Psi^{\text{Me,Me}}\text{Pro})$) を導入した環状ペプチド ($\text{cyclo}[\text{GC}(\Psi^{\text{Me,Me}}\text{Pro})(\text{GP})_3]$) は、ロタキサンを形成しないことを明らかにした。また、分子動力学計算により $\text{C}(\Psi^{\text{Me,Me}}\text{Pro})$ はシスアミド結合を誘起することで、ロタキサン形成時の立体障害が増加することが明らかとなった。したがって、シスアミド結合の形成を誘起するアミノ酸を有する環状ペプチドはロタキサン合成に適していないことが示唆された。

第 5 章では、第 4 章にて用いた環状ペプチドにおいて、一次構造がロタキサンの形成とその安定性に与える影響を、分子動力学計算により評価した。反応座標に沿った自由エネルギーランドスケープを計算することができるアンブレラサンプリング法を利用することで、環状ペプチドとアンモニウムカチオン部位を持つ軸分子がロタキサンを形成する際の自由エネルギーを評価した。第 4 章にて最も高いロタキサン収率を得た cyclo(PG)_4 は、すべてのアミド結合がトランスアミド結合であり、カルボニル酸素が軸分子のアンモニウムカチオン部位と水素結合を形成できるため、ロタキサン構造がエネルギー的に安定であった。一方で、ロタキサンを形成しなかった $\text{cyclo}[\text{GC}(\Psi^{\text{Me,Me}}\text{Pro})(\text{GP})_3]$ は、シスアミド結合を有しているため、軸分子のアンモニウムカチオン部位と水素結合を形成した際に、 $\text{cyclo}[\text{GC}(\Psi^{\text{Me,Me}}\text{Pro})(\text{GP})_3]$ と軸分子の間に立体障害が生じた。そのため、ロタキサン構造がエネルギー的に不安定であることが明らかになった。

第 6 章は結論であり、本論文で得られた成果について要約している。

本論文では、環状ペプチドの一次構造を合理的に設計することで、単一 PNT とペプチドロタキサンの 2 つの新しい超分子構造が構築された。環状 β -ペプチドの側鎖にヘリックスペプチドを導入し、PNT 間の双極子-双極子相互作用を阻害することで、単一 PNT が構築された。単一 PNT の構築に加えて、アクティブテンプレートとスナッピング法を使用してペプチドからなるロタキサンが達成された。いずれの場合も、環状ペプチドの設計において重要な点は、環状ペプチドの中心にて、軸分子と相互作用することであった。 cyclo(PG)_4 は、グリシンカルボニル酸素が環の中心に配向した γ -ターン構造を形成した。その結果、 cyclo(PG)_4 は 2 つのロタキサン合成法において、それぞれ環状ペプチドの中心にて一級アミンもしくはアンモニウムカチオンと相互作用したため、ロタキサンの合成が達成された。

今回得られた成果は、単一 PNT およびペプチドロタキサンを構築する環状ペプチドの設計指針を示し、環状ペプチドからなる新規超分子ナノマテリアルの開発に貢献すると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、環状ペプチドの一次構造を合理的に設計することで、単一ペプチドナノチューブやロタキサンといったこれまでにない超分子構造の構築を行なった研究成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. 環状 β ペプチドの側鎖にヘリックスペプチドを導入することで、ペプチドナノチューブ(PNT)の凝集を抑制し、単一 PNT の構築に成功した。圧電応答力顕微鏡測定により、単一 PNT の圧電係数(1.39 pm/V)と PNT バンドルの圧電係数(1.34 pm/V)がほぼ同等であることを明らかにした。この結果から、PNT の圧電特性は環状ペプチド骨格の変形によって生じ、バンドル構造とは無関係であることを明らかにした。
2. アクティブテンプレート法を利用することで、 γ -ターン構造を形成する環状ペプチド cyclo(PG)₄、求電子剤、および求核剤からロタキサンが合成できることを示した(収率 1.2%)。NH 基を持たないため、 γ -ターン構造を形成しない環状ペプチドである cyclo(PX)₄ (X=サルコシン)を用いたところ、ロタキサンの収率は 0.043%に減少したことから、ロタキサンの合成には、 γ -ターン構造を形成する環状ペプチドが適していることを明らかにした。
3. カチオン認識能を有する cyclo(PG)₄とアンモニウムカチオン部位を持つ軸分子から擬ロタキサンを形成し、アジドとアルキンの環化付加反応で末端をキャッピングすることで、ロタキサンが合成できることを示した。静電相互作用をロタキサン形成の駆動力とすることで、ロタキサンの収率が 36%まで向上することを明らかにした。
4. アンブレラサンプリング法により、トランスアミド結合を有する cyclo(PG)₄では、カルボニル酸素が軸分子のアンモニウムカチオン部位と効果的に水素結合を形成できるため、ロタキサン構造が安定化することを明らかにした。対照的に、シスアミド結合を有する cyclo[GC($\Psi^{\text{Me,Me}}$ Pro)(GP)₃]では、シスアミド結合の形成により生じた立体障害によりロタキサン構造が不安定化することを明らかにした。

以上、本論文は、環状ペプチドからこれまでにない超分子構造の構築を通じて、環状ペプチドで構成された新規ナノマテリアル開発の可能性を示す重要な成果であり、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、令和 7 年 3 月 19 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。