

The study on short elastin-like peptides:
sequence, condition of solution, and structures
influenced self-assembly of the peptide

田坪, 大来

<https://hdl.handle.net/2324/2236031>

出版情報 : 九州大学, 2018, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :



氏 名	田坪 大来			
論 文 名	The study on short elastin-like peptides: sequence, condition of solution, and structures influenced self-assembly of the peptide (短鎖エラスチン様ペプチドに関する研究：配列、溶液条件、構造がペプチドの自己集合に与える影響)			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	野瀬 健
	副 査	九州大学	教授	久下 理
	副 査	九州大学	准教授	松島 綾美
	副 査	九州工業大学	准教授	前田 衣織

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

エラスチン様ペプチド(ELP)は、弾性タンパク質・エラスチンに由来する疎水性残基によって構成された繰り返し配列を有する。ELP の最たる特徴は、エラスチンの前駆体トロポエラスチンと同様に、高温で自己集合し、低温で解離するという、温度依存的に可逆的な自己集合・コアセルベーションを示すことである。ELP はこの特徴のため、ペプチド由来の、生体適合性を有する機能性材料として注目されている。なぜ可逆的な自己集合が起こるのかが明らかになれば、ELP の応用におけるより効率的な分子設計も可能になると考えられる。しかしながら、プロリンとグリシンに富む ELP は一般に不定形な構造をとるとされており、その構造と機能の関係についてはいまだ不明瞭な点が多い。このような背景のなかで、先行研究において芳香族アミノ酸を有する ELP、(FPGVG)_n および、(WPGVG)_n がそれぞれ $n = 5, 3$ の比較的短鎖長で自己集合を示すことが明らかになっていた。このような短鎖の ELP は、大量合成において従来の長鎖 ELP よりも有利であり、加えて、短鎖 ELP の構造解析は長鎖 ELP のものと比較して容易であると予想され、ELP の自己集合機構解明のためのモデルペプチドとしての利用も期待されている。本研究はこの先行研究を踏まえて、ELP の更なる低分子化に有益な知見と可逆自己集合に必要な要素の二点を提示することを目標に、短鎖 ELP の自己集合特性をより強固にする環境要因、構造的要因を明らかとしたものである。本博士論文は、これらに関する研究の経緯、結果およびその成果をまとめたものであり、その内訳および審査結果を以下に示す。

第一章では、ELP の起源となったエラスチンとトロポエラスチン、そして ELP の機能について、さらにその機能を制御する要因について概説した。ELP は配列長や残基の疎水性、多量体化などの分子設計によって自己集合特性が制御可能であること、pH や塩といった環境要因もまた、自己集合を制御する要素となることが示されており、本研究の着想に至る背景を示した。加えて本章では、2015 年から 2018 年中頃までの ELP に関する論文を網羅的に列举し、ELP の自己集合に関する最新の理解を提示するとともに、ELP 応用例を示した。本章では、現代の ELP 応用の多くが長鎖 ELP を用いていることを示しており、短鎖 ELP をターゲットとする本研究の新規性を提示した。

第二章では、自己集合特性を強める要因として、ダイマー化が短鎖 ELP の自己集合特性に与える影響を調査した。本研究では、N 末端にシステイン残基を有するトリプトファン含有 ELP を、空気酸化でダイマー化することで(C(WPGVG)₃)₂ を合成した。その自己集合特性をモノマー体

(WPGVG)₃ および同分子量のリニア一体 C(Cys)(WPGVG)₆ と比較したところ、ダイマー化がペプチドの水溶性を保ちつつ、自己集合特性を大きく向上させることが明らかになった。近年、ELP の自己集合特性を変化させる手法として ELP の多量体化を取り扱った文献が多く報告されており、短鎖 ELP においても、ダイマー化が自己集合特性を制御する有用な手段であることが示された。

第三章では、pH と塩が短鎖 ELP の自己集合に与える影響を調査した。本研究では、配列末端の保護状態が異なる 4 つの(FPGVG)₅ アナログを合成し、それらペプチドの自己集合特性における塩と pH の影響を比較した。その結果、pH に依存したペプチド末端の電離は、ペプチドの水和を促進し、疎水性効果によって駆動される自己集合を妨げた。加えて塩は、ペプチドに対してホフマイスター系列に従った塩析と塩溶の効果を示すことが明らかになった。しかし、一般に塩溶の効果を示すカオトロピックなアニオンは、(FPGVG)₅ の電離した N 末端の正電荷に相互作用を示し、ペプチドの自己集合特性を著しく向上させることが分かった。これらの pH 応答性と電離した N 端とアニオン間に生じる特異な効果は、長鎖の ELP には見られない現象であり、したがって、短鎖 ELP の自己集合における新たな特性を見いだすことができた。

第四章では、ELP の繰り返し配列を構成する一次構造と自己集合特性の関係を調査した。本研究では、(FPGVG)₅ に基づく 11 のシャッフル配列アナログを作成し、これらの自己集合特性を比較した。その結果、8 つのアナログが従来の ELP と同じように温度依存的に可逆的な自己集合を示し、これら 8 つのペプチドは異なる構造的特徴を有していたことから、自己集合特性の発現自体には、特定の一次構造や二次構造よりも、むしろ繰り返し配列を構成するアミノ酸組成が重要であることが示された。このような ELP の一次構造と自己集合特性の関係性についての知見は、今後の ELP の応用における合理的な分子設計に貢献すると考えられた。加えて、本研究において(FPGVG)₅ よりも強固な自己集合特性を示す 2 つのペプチドアナログを見いだした。新たに発見された強い自己集合特性を示すペプチドモチーフは、より短鎖な ELP の作成に役立つものと考えられた。

本論文は上記の四章を通じて、短鎖 ELP の自己集合特性に影響を与える構造要因、環境要因に新たな知見を提示した。多量体化および一次構造のデザインは短鎖 ELP の自己集合特性を変化させること、また短鎖 ELP は pH や塩に対して、長鎖 ELP とは一部異なる応答性を示すことが本研究により明らかになった。

以上の結果は、短鎖 ELP のコアセルベーション機構の解明に極めて重要な知見を与えるものであり、さらに、新規の高機能性ペプチドアナログを見いだした卓越した研究業績と認められる。

よって、本研究者は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認める。