

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	タンパク質分子針の動的挙動考慮設計による自己集合構造の創出
Title(English)	Dynamics-coupled Design of Protein Needles for Constructing Self-assembly Structures
著者(和文)	菊池幸祐
Author(English)	Kosuke Kikuchi
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12662号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,石井 佳誉,金原 数,田口 英樹,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12662号, Conferred date:2024/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	菊池 幸祐		審査員主査： Chief Examiner	上野 隆史

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文では、タンパク質の動的挙動の理解と集合構造設計との連動を目指し、タンパク質分子針を利用した集合化研究を遂行した。本論文は全 5 章より構成されている。

第一章では、タンパク質集合体研究の現状を概観し、集合設計と動的挙動との関係について述べている。生命は、自己集合反応を利用することで多様な構造体合成および生体反応を実現している。それらを可能にする生体高分子のなかでも、タンパク質は高い単分散性、設計自由度、豊富な機能性、生体適合性などの点で魅力的な生体高分子である。それらが自発的に集合することで形成されるタンパク質集合体は単分子では実現しえない高次の構造・機能を発現可能であり、その合理的な設計と応用が研究されてきた。一方で、自己集合過程の理解も進められ、電子顕微鏡や蛍光顕微鏡、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) などが駆使されてきた。しかしながら従来のタンパク質集合設計では対称性の高い設計が行われてきたため、得られる動的挙動の知見も限定されてきた。そこで本論文では、異方的な針状形状を有するタンパク質を利用することにより、分子の並進・回転運動を含めた動的集合メカニズム解明と集合構造設計とを連動して実現可能になると考え、研究を行った。

第二章ではまず、タンパク質分子針 PN を用いた二次元自己集合構造の設計とその動的集合メカニズムの解明をおこなった。PN はバクテリオファージ T4 の細胞膜貫通分子針をもとに設計されたホモ六量体タンパク質であり、長さ約 20 nm、幅約 3 nm で両端対照的な構造を有する。先行研究から、PN のマイカ基板上での動的挙動と配向は HS-AFM によって追跡可能であると示されている。そこで、PN の両 C 端ドメインが改変可能なことを利用し、三種類の異なる分子針を設計した。合成した分子針は直線線維構造、単分子状態、三角形格子構造を示し、PN 両末端のシンプルな設計による二次元集合体の作り分けがまず達成できた。つづいて基板上への PN 集積過程を HS-AFM によって 1 秒単位で高速追跡し、特徴的な並進・回転運動を見出した。それらをもとにして最小限の要素からなる数理モデルを構築しモンテカルロシミュレーションを実行したところ、C 末端間相互作用の違いによって最終的な集合構造が変化する様子が再現された。さらに、回転運動を欠損した場合には自己集合パターンは表れず、集積過程での各分子の動的挙動の重要性が新たに示された。以上の結果から、タンパク質分子針 PN を利用することにより、タンパク質集合構造の合理的な作り分けとその動的挙動の理解が可能で、新たな枠組みが提示できた。

つづいて第三章では、PN を用いた集合体設計をさらに拡張すべく、両端非対称的な分子針を利用したより複雑な集合設計を試みた。かさ高い N 末端頭部と His-tag を提示した C 末端とを有する非対称分子針 gp5_CHis を設計し、マイカ基板上に展開した。その結果、N 末端頭部どうしによる四量化形成が HS-AFM によって観察され、それらが C 末端 His-tag によって連結されてネットワーク構造を形成することが見出された。この集合化においても分子の基板上吸脱着や拡散運動といった動的挙動が集合形成に必須であることが見出された。さらに、マイカ基板の利用により、gp5_CHis の四量化やネットワーク構造など、天然では見出されない集合体形成が可能であると明らかにされた。

以上を踏まえ、ここまでで実現してきたタンパク質分子針—マイカ基板による二次元ハイブリッド集合化をさらに発展させることを検討した。そこで第四章では、自己集合によって構造色フィルムを形成するセルロースナノ結晶 (CNC) に着目した。CNC は長さ数百ナノメートル、幅数ナノメートルの大きなアスペクト比を有する針状結晶であり、懸濁液の乾燥によって自己集合してキラルネマチック構造を示す。この高次構造が呈する構造色に注目した研究がこれまでさかんにおこなわれてきたものの、タンパク質の複合化による光学特性制御はあまりおこなわれてこなかった。そこで蒸発誘起自己集合手法にもとづいてタンパク質—CNC 複合化フィルムを作成し、その顕微鏡観察および UV-Vis 反射率スペクトル測定をおこなった。その結果、リゾチームおよびウシ血清アルブミンが混合比依存的な青方遷移を誘起すると見出し、今後のハイブリッド生体由来材料の創出への知見を深めた。

第五章では、上記を総括して結論を述べ、新たな自己集合体設計と運動性を組み込んだ自己集合材料の実現可能性を展望している。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	菊池 幸祐		審査員主査： Chief Examiner	上野 隆史	

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

In this thesis, I demonstrated the design of hierarchical self-assembly structures in hybrid systems based on the dynamic behaviors of proteins. This thesis consists of 5 chapters. Chapter 1 overviews the backgrounds of protein assembly designs and their dynamic assembly mechanisms. Despite the extensive studies, there remains a missing link between the design based on static structures and the dynamic behaviors inherent in proteins. Thus, I set out to establish protein needle-based assembly designs coupled with dynamic behaviors. Chapter 2 establishes a foundational framework, linking dynamics and design through the design of protein needles (PNs). Tailored protein-protein interactions led to distinct assembly structures on mica, such as straight fibers and triangular lattices. Real-time high-speed atomic force microscopy (HS-AFM) observation and Monte Carlo simulation underscored the significance of diffusive motions in achieving proper assemblies. This chapter demonstrates the bridging of protein design, dynamic behaviors, and assembly formation, leveraging the high designability and trackability of PNs. In Chapter 3, I designed a head-tail asymmetric protein needle called gp5_CHis to achieve more complicated assemblies. HS-AFM imaging and analyses revealed that gp5_CHis exploits two distinct protein interactions orthogonally to form a mica-specific tetrameric network-like assembly. Chapter 4 explores optically functional materials via a protein-hybridized system. I fabricated structurally colored films from cellulose nanocrystals (CNCs) and aimed to tune their color through protein incorporation. Although the detailed mechanism and further experiments should be addressed in the future, the results suggest potential approaches in protein-CNC hybrid systems for functional biomaterials. In Chapter 5, I provide the general conclusion and perspective, discussing the possible future directions of assembly designs harnessing dynamic functions.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).