

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	新規UCST型シトルリンポリペプチドの設計と相転移挙動の制御
Title(English)	
著者(和文)	畔柳奏太郎
Author(English)	Soutarou Kuroyanagi
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11486号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:丸山 厚,石井 佳誉,金原 数,櫻井 実,堤 浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11486号, Conferred date:2020/3/26, 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)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	畔柳 奏太郎		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	丸山 厚	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

温度応答性高分子とは温度変化に応じてその物理化学的性質を変化させる高分子であり、温度をトリガーにした刺激応答性の材料として様々な分野で応用が進んでいる。その中でも上限臨界溶液温度 (UCST) 型と呼ばれる、低温側で凝集し、高温側で溶解する挙動を示すものは非常に珍しく、報告例は少なかった。当研究室ではウレイド基を持つ高分子が生理的条件下で水素結合を駆動力とした UCST 型挙動を示すことを報告してきた。ウレイド高分子は UCST 以下でコアセルベート液滴を形成するため、生体分子の構造を保ったまま担持することが可能である。この性質を用いて様々なバイオマテリアルとしての応用を行ってきたが、既存のウレイド高分子は生分解性を持たないため、生体内における薬剤輸送担体や足場としての利用は困難である。そこで、ウレイド基を有するアミノ酸であるシトルリンに着目し、シトルリン共重合体 (POC) の合成を試みた。POC は天然アミノ酸から成るので、生体適合性や生分解性を持つ UCST 型マテリアルとして期待できる。またポリペプチドである POC は、構成するアミノ酸の光学活性や種類がその物性に影響を与える可能性がある。そこで本論文では、立体規則性や組成の異なる種々の POC 誘導体を合成し、相転移挙動の制御を目指した。具体的には、L 体のアミノ酸から成る PLOC とそのラセミ体である PdLOC、及び種々のアミノ酸との共重合体 (PXC) を合成し、UCST 型相転移挙動の制御を目指した。

第一章「序論」では、研究背景および研究意義について概説し、本論文の目的を示した。

第二章「シトルリンポリペプチドの光学活性が UCST 型相転移挙動に与える影響」では、光学活性の異なる POC を合成し、相転移挙動を比較することでその立体規則性が相転移挙動に与える影響を評価した。ホモキラルな PLOC、PdOC と比較してラセミ体の PdLOC は相転移温度 (T_p) が低く、PdLOC が相転移に伴ってコアセルベート液滴を形成するのに対し、PLOC と PdOC が固体様沈殿を形成することが示された。円二色性 (CD) スペクトル測定および広角 X 線散乱測定により、PLOC は α -ヘリックス構造を形成し、 T_p 以下でヘキサゴナル構造に凝集することが明らかになった。また、 T_p 以上において L 体アミノ酸を含む POC はタンパク質分解酵素により分解した。一方で T_p 以下においては、コアセルベート液滴を形成する PdLOC は分解したのに対し、ヘキサゴナルバック構造を形成する PLOC は分解しなかった。つまり、光学活性および相転移構造によって分解性に差が生じることを示した。

第三章「疎水性アミノ酸との共重合によるシトルリンポリペプチドの相転移挙動制御」では、シトルリンと疎水性度の異なる種々のアミノ酸の共重合体である PXC (X: アラニン (A)、ロイシン (L)、フェニルアラニン (F)) を合成し、 T_p の制御を目指した。 T_p は PAC、PLC、PFC の順に高くなり、共重合するアミノ酸の疎水性度が上がるほど T_p が高くなることが示された。また PLC においてロイシンの導入率が T_p に影響を与えることも明らかになった。これらの結果から、シトルリンと共重合するアミノ酸の種類や導入量を変えることで、 T_p を制御できることを明らかにした。

第四章「グアニジノ基導入シトルリンポリペプチドの相転移挙動評価」では、水素結合性の官能基であるグアニジノ基がシトルリンポリペプチドの相転移挙動に与える影響について評価した。POC をグアニジノ化することで合成したポリ (アルギニン-co-シトルリン) (PRC) と POC の相転移挙動を比較し、POC よりも PRC の方が高い T_p を示すことを明らかにした。また、CD 測定および MD シミュレーションから、PRC の方が POC よりも α -ヘリックス構造が安定化されていることを示した。アルギニン残基のグアニジノ基とシトルリン残基のウレイド基が水素結合を形成することで、 α -ヘリックス構造やその組織化構造が安定化したと示唆される。

第五章「結論」では、本研究で得られた知見をまとめている。

シトルリンポリペプチドは天然アミノ酸由来の UCST 型高分子であり、その組成や立体規則性によって相転移温度や構造、および分解性を制御することができることから、生体材料工学において非常に有用なスマートポリマーと言える。

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 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).

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	(工学)
学生氏名： Student's Name	畔柳 奏太郎		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	丸山 厚	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

The thermoresponsive polymers that change their physicochemical properties at a particular temperature has been widely examined as various biomaterials. In the previous study, it was reported that ureido derivatized polymers exhibited upper critical solution temperature (UCST) behavior driven by strong hydrogen-bonding interactions of ureido groups under physiologically relevant conditions. Since ureido polymers form coacervate droplets below UCST, ureido polymers were used in biomaterials such as thermo-controlled bioseparation and cellular engineering. However, the ureido polymers reported so far don't have bio-degradability. Ureido derivatized polypeptides, poly(ornithine-co-citrulline) (POC) consist of naturally occurring amino acids is envisioned biodegradable and biocompatible UCST materials. In this study, various POC derivatives with different compositions and stereoregularity were prepared to control the UCST behavior.

Firstly, various optical isomers of POC were compared to investigate how stereoregularity of the polypeptides influences UCST behavior. Homochiral PLOC and PDOC showed higher phase separation temperatures (T_p s) than racemic PDLOC. Of interest, PDLOC underwent liquid-liquid phase separation (coacervate formation) at T_p whereas PLOC and PDOC underwent liquid-solid phase separation. From a structural point of view, circular dichroism and small-angle X-ray scattering measurements revealed that homochiral PLOC formed α -helical structures and assembled into a regular hexagonal lattice upon phase separation. Interactions between the pendent ureido groups of homochiral POCs appear to play pivotal roles in helical folding and assembly into the hexagonal structure.

Citrulline copolypeptides, PXC (X: alanine (A), leucine (L), phenylalanine (F)), showed diverse UCST behavior. T_p s of PAC, PLC, and PFC were <5.0 °C, 16.2 °C, and 33.0 °C, respectively, indicating that T_p was increased with increasing hydrophobicity of the comonomer X. In addition, leucine contents of PLC also affected T_p values. These results indicated that varying hydrophobicity and content of comonomer in citrulline copolypeptides T_p s of the polypeptides were widely controlled.

Finally, poly(arginine-co-citrulline) (PRC) was prepared by guanidinylation of ornithine residue in POC. T_p s of PRC were higher than that of POC. CD measurement and MD simulation revealed that α -helical structure of PRC was more stable than that of POC. It seems that guanidino groups in arginine having multiple hydrogen bonding sites formed hydrogen bonding with ureido groups and stabilized α -helical structure and its organized aggregates.

Citrulline polypeptides are promising bioabsorbable material with adjustable phase transition structure and T_p .

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).