

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	カチオン性くし型共重合体による膜融合E5ペプチドの構造・機能制御
Title(English)	
著者(和文)	坂本和歌子
Author(English)	Wakako Sakamoto
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11487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11487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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	坂本 和歌子	
論文審査 審査員		氏名		職名	氏名	職名
	主査	丸山 厚		教授	堤 浩	准教授
	審査員	石井 佳誉		教授		
		金原 数		教授		
櫻井 実			教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「カチオン性くし型共重合体による膜融合 E5 ペプチドの構造・機能制御」と題し、5章で構成されている。ペプチドは医薬、ナノテクノロジー分野で近年研究開発が活発化している。ペプチドの高機能化には、二次構造、組織化・会合特性、標的結合性など多面的に制御する手法が必要である。本論文では、生体膜活性化ペプチド E5 をモデルに、生体分子工学および高分子科学的観点から、ペプチド機能を高める新たな手法を提案し、評価した結果が述べられている。

第一章「序論」では、生体内における脂質膜ダイナミクスの制御の仕組み、人工シャペロンの有用性、高分子医薬の膜透過性向上に向けたシステムの開発、膜融合 E5 ペプチドの特性・課題点など、研究の背景について詳述している。

第二章「カチオン性くし型共重合体の E5 ペプチドに対するシャペロン効果」では、E5 の二次構造や膜破壊活性について、様々な脂質組成のリポソームやカチオン性くし型共重合体を用いて評価している。E5 が膜選択性を持つことや、カチオン性くし型共重合体がリポソーム懸濁液中の E5 ペプチドを部分的なフォールディング構造から完全な構造へ転移させ、E5 の膜選択性に影響を与えず活性を促進したこと、さらに E5 の脂質膜への吸着やポア形成のための会合を促進したことなど、カチオン性くし型共重合体の E5 に対するシャペロン機能発現機構を議論している。

第三章「カチオン性くし型共重合体/E5 ペプチド複合体が細胞膜に与える効果」では、HL-60 細胞を対象に、タンパク質の細胞内から細胞外、細胞外から細胞内への透過性を、乳酸脱水素酵素アッセイや共焦点顕微鏡観察、フローサイトメトリー解析により評価している。カチオン性くし型共重合体による E5 の活性化機能がリポソーム膜のみならず生細胞に対しても効果的であり、タンパク質の細胞膜透過性を高められることを示した。また、MTT アッセイや Calcein-AM 染色による生存率評価より、この複合体では界面活性剤であるジギトニンに比べて細胞へのダメージを軽減しつつ膜透過性が向上できることを明らかにした。

第四章「カチオン性くし型共重合体による標的細胞への E5 感受性のプログラミング」では、ステアシル基導入くし型共重合体 (PAA-g-Dex-SA) を合成し、その細胞毒性や細胞膜への親和性、PAA-g-Dex-SA ラベルした細胞での E5 の活性化能を評価している。細胞毒性を高めること無く PAA-g-Dex にステアシル基を導入できることを見いだしている。共重合体を蛍光修飾し、細胞での局在を共焦点顕微鏡により観察することで、ステアシル基の導入により PAA-g-Dex の細胞膜親和性を高められることを確かめている。PAA-g-Dex-SA ラベルした HL-60 と非ラベル HL-60 との混合系で E5 を添加したとき、ラベル化細胞でのみ E5 が活性化されたことから、PAA-g-Dex-SA により細胞に E5 感受性をプログラムできることを明らかにしている。

第五章「結論」では、第 2 章～5 章で述べた本研究の成果を総括し、将来展望を述べている。

以上を要するに、本論文では、カチオン性くし型共重合体による E5 ペプチド活性化機構の詳細を明らかにすると共に、カチオン性くし型共重合体の細胞膜への親和性の向上、細胞に E5 感受性をプログラミングする材料としての有用性を実証することに成功しており、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。