

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	撥水性高分子に結合するペプチドの同定と分子糊としての利用
Title(English)	
著者(和文)	木田 勇一
Author(English)	Yuichi Kida
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12412号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:芹澤 武,原 正彦,古屋 秀峰,田中 祐圭,澤田 敏樹
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12412号, Conferred date:2023/3/26, 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		木田 勇一	
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名	
	主査	芹澤 武	教授	審査員	澤田 敏樹	准教授	
	審査員	原 正彦	教授				
		古屋 秀峰	准教授				
		田中 祐圭	准教授				

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「撥水性高分子に結合するペプチドの同定と分子糊としての利用」と題し、全五章で構成されている。本論文は、撥水性高分子であるポリ(テトラフルオロエチレン) (PTFE) に対して非共有結合により結合するペプチドを同定し、PTFE 材料を表面修飾するための分子糊としての利用可能性を明らかにすることを目的としている。

第一章「序論」では、代表的な撥水性高分子である PTFE に対して結合するペプチドを同定する意義、ならびにそれらを PTFE の表面修飾のための分子糊として利用する意義について概観した後に本論文の目的を述べている。

第二章「撥水性高分子に対するペプチドのスクリーニングと特性評価」では、PTFE に結合するペプチドをペプチドライブラリーからスクリーニングしている。ファージディスプレイ法により構築された 12 残基のペプチドライブラリーを用い、5 ラウンドのスクリーニング操作を行っている。同じペプチド配列を提示した複数のファージクローンを同定しており、また配列に相同性をもつファージクローンを多数確認することにより、PTFE に結合するファージの集団へと濃縮されたことを示している。ファージクローンあるいは野生型 (WT) ファージを修飾した PTFE フィルムの濡れ性について評価することで、ファージの修飾によって PTFE フィルムが親水化されることを明らかにしている。提示されたペプチド配列によって接触角の値に差が見られ、ファージに提示されたペプチドが PTFE との相互作用に寄与していることを示している。最も親水化されたファージクローン (12-c1) を修飾した PTFE フィルムを原子間力顕微鏡により観察することで、ファージと考えられる繊維状の構造体を多数確認し、その数は WT ファージを修飾した場合よりも多いことを明らかにしている。さらに、PTFE 表面への 12-c1 ペプチド (アミノ酸配列: Val-His-Phe-Pro-Thr-Lys-Ile-Ser-Glu-Gly-Asp-Met) の結合様式を明らかにするために、分子動力学シミュレーションにより結合の平衡状態や剥離エネルギーを解析している。PTFE 表面にペプチドが強く結合するためには、平坦な形状のペプチドが広い接触面積で相互作用することが重要であると考察している。12-c1 ペプチドの配列を置換したペプチドの分子動力学シミュレーションの結果から、12-c1 ペプチドは各アミノ酸の適切な配置によって、反りや絡み合いを生じることなく平坦な構造で安定化されていると考察している。以上のように、ファージに提示されたペプチドライブラリーを用いたスクリーニングにより、PTFE に結合するペプチドを同定することに成功している。

第三章「ペプチド融合 NanoLuc による PTFE 表面の修飾」では、スクリーニングにより獲得したペプチドの結合能を評価するとともに、タンパク質により PTFE を機能化するための分子糊としてペプチドが有用であることを明らかにしている。低分子量の発光タンパク質である NanoLuc (Nluc) に PTFE 結合性ペプチドを融合し、Nluc による発光を利用して結合能ならびに機能化について評価している。ペプチドの融合により Nluc の発光は変化せず、ペプチドの融合が Nluc の機能そのものに影響を及ぼさないことを明らかにしている。ペプチド融合 Nluc を PTFE と相互作用させた後に Nluc の基質を添加し、引き続き発光強度を測定することで、Nluc の濃度依存的な発光強度を測定している。この濃度依存性を Langmuir 型吸着等温式にフィッティングすることで見かけの結合定数を決定しており、ペプチドの融合により見かけの結合定数が増大することを明らかにしている。このように、タンパク質に融合したペプチドが PTFE に対して結合能をもつことを示すと同時に、PTFE をタンパク質により機能化するための分子糊として、獲得したペプチドが有用であることを見出している。

第四章「ファージ修飾した PTFE フィルムの交互積層法による機能化」では、PTFE 結合性ペプチドを提示したファージを修飾した PTFE フィルムに対して、交互積層法により合成高分子や酵素を積層させて PTFE 表面を機能化している。カチオン性ならびにアニオン性の合成高分子を積層させると、ファージを修飾した PTFE フィルムでは未修飾の PTFE フィルムと比較して早い積層段階からフィルム表面が親水化され、高分子薄膜が容易に形成されることを明らかにしている。さらに、カチオン性合成高分子と酵素を積層させると、ファージを修飾した PTFE フィルムでは、酵素の固定化量が増大することを見出している。このように、PTFE 表面を機能化するうえで、ペプチドを提示したファージクローンを利用することが有用であることを示している。

第五章「結論と今後の展望」では、本論文を総括し、今後の展望について述べている。

これを要するに、ペプチドを分子糊として用いることで撥水性高分子の表面を機能修飾できることを明らかにし、撥水性高分子の利用拡大に繋がる新たな方法論を開拓したことから、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。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」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。