

別紙1 (博士論文の審査結果の要旨)

専攻名 システム創成科学専攻

氏名 重富 敬太

イオンチャネルタンパク質は細胞のイオン恒常性の維持や電気信号の形成などの生体内の様々な生理学的プロセスに関与する膜内タンパク質である。イオンチャネルの最も一般的な構造は数本の膜貫通ヘリックスをもつサブユニットが自己集合したヘリックスバンドル構造である。このような構造は20残基程度のより単純なヘリックスペプチド部分構造の自己集合によっても構築される。これらはイオンチャネルペプチドと呼ばれ、複雑な構造をもつ天然のイオンチャネルタンパク質の機能を理解するための単純化されたモデルとして利用される。また高度な機能をもつように *de novo* 設計された人工イオンチャネルペプチドは抗菌剤、ドラッグデリバリーシステム、抗がん剤のような幅広い用途に応用できるため、機能性分子の候補化合物として近年注目されている。このような人工イオンチャネルペプチドを設計する上で安定なイオンチャネル構造の構築は必須であるが、チャネル構造の安定化因子に関する知見は乏しい。一方で、タンパク質におけるヘリックス間の会合に関する研究は盛んに行われており、芳香族アミノ酸残基間の相互作用や疎水性アミノ酸残基間の相互作用がヘリックス間の会合安定化に関与することが報告されている。これらはペプチドにおいてもヘリックスバンドル構造形成の重要な要素として働くことが期待される。

本研究では、芳香族残基の及ぼす π - π 相互作用やカチオン- π 相互作用がヘリックス間会合やイオンチャネル構造安定化への効果を明らかにするため、芳香族残基を持たずにイオンチャネル形成能をもつモデルペプチドに対して、芳香族残基を任意の位置に導入したヘリックスモデルペプチドあるいは疎水性相互作用を強化したヘリックスモデルペプチドに

対して芳香族残基導入したペプチドを化学合成し、構造およびイオンチャネル特性について評価している。特に芳香族残基としてはゆらぎ塩基の変異によりナンセンス変異を誘発するトリプトファン残基(Trp)がウイルス由来のイオンチャネルペプチド *viroporin* に有意に多く含まれることに着目して分子設計がなされている。本論文は全6章で構成されており、章ごとの概要は以下の通りである。

第1章では序論としてイオンチャネルタンパク質およびイオンチャネルペプチドの特徴を芳香族アミノ酸と関連付けて記載した後、本研究の目的を述べている。

第2章では、これまでに報告されている人工イオンチャネルペプチドのデザインに関する知見とヘリックス間会合における芳香族相互作用に関する知見を記述し、本研究におけるペプチドデザインのコンセプトを記載している。

第3章ではモデルペプチドの化学合成の手法と合成したペプチド群の水溶液中および脂質膜中での二次構造、脂質膜に対する相互作用と膜摂動について分光学的手法による解析を記載している。

第4章ではモデルペプチドのイオンチャネル形成機能を電気化学的手法を用いて解析するとともにイオンチャネル構造に対する考察について記述している。特にモデルペプチドの特定の位置に Trp を導入したペプチドが他の Trp 含有モデルペプチドと比較して、チャネルの開口頻度と開寿命の増加をもたらすことや低濃度で安定なチャネル形成を観測したことでヘリックス間におけるトリプトファン残基とリジン残基間のカチオン- π 相互作用がヘリックスバンドル構造を安定化することを考察している。また疎水性相互作用が強く会合が増強されておりイオンチャネル能を示さないペプチドに対して位置選択的 Trp 残基の導入がイオンチャネル形成能を持たせることができることを示した。

第5章では本研究で用いた実験手法について詳細に記述し、最後の第6章は本研究の全体の結果を総

括している。

以上、本論文は天然のイオンチャネルタンパク質における芳香族残基の重要性についてヘリックスモデルペプチドによりヘリックスバンドル安定化効果として明確に示すとともに、イオンチャネルペプチドの設計において Trp 残基の位置選択的な導入が有効な方法であることを示した。

令和4年2月3日に実施した博士論文公聴会においても種々の質問がなされ、いずれも著者の説明により質問者の理解が得られた。

また、本研究の内容は、審査付学术论文4編、国際学会発表1件等で報告されており、著者は研究者としての十分な能力を有していると言える。

以上の審査結果に基づき、本論文は博士（理学）の学位を授与するに値すると判断され、審査員全員一致で合格と判定した。