

## 論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 創 第 8 号	氏 名	假屋園 大和
学位論文題目	バイヘリカル構造を有するナノディスク骨格ペプチド (NSP) の創製と機能評価		
<p>[背景]</p> <p>ナノディスクは、両親媒性ヘリックス構造を形成した骨格タンパク質がリン脂質二重膜の周囲を覆うことにより形成される10 nm前後のリン脂質・タンパク質複合体である。ナノディスクのリン脂質二重膜領域には膜タンパク質の埋め込みが可能であり、新たな膜タンパク質可溶性デバイスとして注目されている。膜タンパク質は種類により膜貫通領域の大きさが異なるため、それぞれの膜タンパク質に合わせてディスクサイズを最適化する必要がある。</p> <p>骨格タンパク質であるapoA-Iを基に設計された模倣ペプチドは、リン脂質との組成比に依存してディスクサイズが変化可能であることから新たなナノディスク骨格として注目されている。しかし、ペプチドを骨格としたナノディスクは安定性の低さが課題となっている。そこで本研究では、熱力学的安定性の高いナノディスクを形成する骨格ペプチドの創製を目的とした。</p> <p>[結果]</p> <p>ApoA-I模倣ペプチド4Fを基本骨格とし、プロリンを介してN末端側に2F変異体を結合させた非対称バイヘリカル構造を持つナノディスク骨格ペプチド (nanodisc scaffold peptide, NSP) を創製した。コール酸透析法により調製したNSPナノディスクは、apoA-Iと異なり調製時のリン脂質/NSP質量比に応じてディスクサイズを変化させ、サイズ排除クロマトグラフィーに対しても安定であった。</p> <p>NSPは、ナノディスク上において4Fよりも高い<math>\alpha</math>-ヘリックス含有率を有し、また、内在性トリプトファン蛍光スペクトルはNSPが4Fと比べてリン脂質のアシル鎖領域と強く相互作用していることを示したことから、<math>\alpha</math>-ヘリックス構造による脂質親和性の向上が示唆された。次にナノディスク調製時のリン脂質/NSP質量比によるNSPのサイズ制御能を評価した結果、ナノディスク粒子径は7.5-23.4 nmの範囲で変化し、組成比に依存したサイズ制御が可能なが示された。また、NSPは中性pH下で生理的なリン脂質ベシクルを可溶化し、自発的なナノディスク形成が可能であった。</p> <p>NSPナノディスクは4Fナノディスクよりも希釈に対して安定であり、タンデムヘリカル化による安定性向上が示唆された。さらにナノディスク上におけるNSP、4F、apoA-Iの熱力学的安定性を<math>\alpha</math>-ヘリックス構造の熱変性により比較したところ、NSPは90°Cにおいても完全に変性せず、apoA-Iと同程度の安定性であった。したがって、NSPのタンデムヘリカル構造がナノディスクの安定性を向上させることが明らかとなった。</p> <p>[結語]</p> <p>ペプチドを骨格としたナノディスクの課題であった安定性の低さを克服し、かつ高いサイズ制御能を有するナノディスク骨格ペプチド (NSP) を創製した。バイヘリカル構造を有する NSP が apoA-I タンパク質と同程度の熱力学的安定性を有するという結果は、新たにナノディスク骨格ペプチドを設計していく上で有益な知見となり、ペプチドがもつ特性を活かした応用の進展が期待される。</p>			