



Title	Structural Analyses of Helices of Poly-Oligo(lactic acid) in Solution-State [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	本元, 貴大
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第13161号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69968
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takahiro_Hongen_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学）氏名 本元 貴大

学位論文題名

Structural Analyses of Helices of Poly- Oligo(lactic acid) in Solution-State

(液相中ポリ・オリゴ乳酸のらせん構造解析)

生体高分子であるタンパク質・核酸・糖鎖において、らせん構造は共通して見られる構造である。例えば DNA は、塩濃度や塩基配列によってらせん構造が A 型・B 型・Z 型に変化する。タンパク質では一次配列や水素結合の有無によって α -ヘリックス構造とポリプロリントタイプ II(PPII)といった二次構造が形成されて機能が発現される。多糖は分子内・分子間水素結合をとりらせん構造が保たれている。そのため、生体高分子のらせん構造の解明は生体高分子の立体構造解析は生命現象を正しく理解するうえで非常に重要であり、生体機能を模倣させた新規人工高分子創製の足掛かりになると期待される。人工高分子の中でらせん構造を形成されているポリ L 乳酸は生分解性を持つ人工高分子の 1 つであり、体内で分解される性質を利用して手術用縫合糸や DDS に用いられている。ポリ乳酸の基本骨格となる乳酸はアミノ酸の 1 つであるアラニンと構造が類似しているため、ポリ L 乳酸は類似したポリペプチド構造を形成するポリアラニンのアナログとして構造解析の比較がなされていた。しかしながら、固相状態のポリ乳酸の立体構造解析は複数の解析手法により報告されていたが、液相中におけるポリ L 乳酸の詳細な立体構造解析法は現在まで報告されていなかった。液相中の立体構造を解析する手法の 1 つに円赤外二色性(VCD)が挙げられる。VCD は全ての分子に適用可能であり、理論計算との相性が良いことから分子の絶対立体配置の解析に強力な手法となる。そこで、本学位論文では液相中におけるポリ L 乳酸の詳細な立体構造解析及び、ポリ L 乳酸-ポリペプチド誘導体の二次構造解析への応用を目的とした。

2 章では VCD による液相中におけるポリ L 乳酸の立体構造解析について報告する。液相中生体高分子の立体構造を解析する手法として ECD(electronic circular dichroism)が挙げられるが、ポリ乳酸の持つエステル結合は CD の吸収強度が小さいため解析にあまり適していない。そこで、エステル結合の C=O 基に特に強い吸収を持つ IR に着目し VCD(vibrational circular dichroism)による立体構造解析を行った。構造解析にあたり、ポリ L 乳酸をモデル化合物として理論計算と当研究室で開発した VCD 励起子キラリティー法の両者を用いることによる液相中ポリエステルの立体構造解析法の確立を行うこととした。まず、ポリ L 乳酸を有機溶媒に溶かして VCD スペクトルを測定したところ、溶媒の種類・溶媒効果に関わらず低波数から高波数にかけて負から正に移る VCD スペクトルが観測された。このことから、VCD 励起子キラリティー法に基づいてポリ L 乳酸は異なる液相条件下でも安定な左巻きらせん構造を形成していることが示された。次に L 乳酸の鎖長と VCD スペクトル強度における相関性を検証するために、鎖長が 2・4・6 の L 乳酸オリゴマーを合成して VCD スペクトルを測定した。その結果、L 乳酸が 2 つ繋がったオリゴマーはポリ乳酸と比較すると強度は小さくなるものの低波数から高波数にかけて負から正に移る VCD スペクトルが観測され、左巻きのらせん構造を形成する傾向があることを見出した。そして、鎖長が伸びるにつれてポリ L 乳酸のような VCD スペクトルに収束されていき、6 量体の VCD スペクトルとポリ L 乳酸の VCD スペクトルがほぼ同様の VCD スペクトルを示すことを明らかにした。そこで、より詳細な立体構造解析を行うために理論計算により乳酸 6 量体の計算スペクトルを算出し、実測スペクトルとの比較を行うこととした。その結果、実測・計算スペクトル両方で非常に良い一致を示しており、液相状態のオリゴマーを正しく反映されていると示唆され、その結果をポリ L 乳酸に適用可能だと考えた。以上より、ポリ L 乳酸は液相中でピッチ 3.0 Å、カルボニル基間の二面角が約-106°の 10_3 ヘリックス構造のような左巻きのらせん構造を形成し

ているということを明らかにした。

3章ではポリ L 乳酸の導入によるオリゴアラニンのらせん構造の制御について報告する。PPII 構造はタンパク質・ペプチドの二次構造の 1 つであるため、PPII 構造を制御できれば人工高分子にこれらのタンパク質のような機能を付与させることが可能になる。しかしながら、タンパク質・ペプチドは同じ一次配列でも複数の二次構造を形成することがある。例えば、ペプチドの 1 つであるポリアラニンでは PPII 構造を形成する一方で、別の条件では α -ヘリックス構造といった異なる構造もとりうる。そのため、何らかの方法で特定の二次構造に誘導化させる必要が求められる。そこで筆者は左巻きのらせん構造を形成しているオリゴ L 乳酸をオリゴアラニンに結合させることで、アラニン鎖が乳酸の左巻きらせん構造の影響を受けて PPII 構造のような左巻きらせん構造に誘導されるのではないかと考えた。二次構造解析にあたり、VCD とペプチドの二次構造解析に用いられる ECD を利用し、その両者のスペクトルを比較することでオリゴアラニンの二次構造解析を行うこととした。始めに、アラニン 6 量体の ECD スペクトルを測定したところ、低波長に移るにつれて負の吸収が増大するスペクトルが観測された。高波長から低波長にかけて正から負に移る PPII 構造特有のスペクトルが観測されなかったことから、アラニン 6 量体は特定の二次構造をもたないことが示された。次にアラニン 6 量体のうち、N 末端側または C 末端側の 3 残基のアラニンを L 乳酸に置き換えた化合物を合成した。まず、それら化合物の VCD スペクトルを測定するとアミド I' 領域のカルボニル基において低波数から高波数にかけて負から正に移る VCD スペクトルが観測され、アラニン鎖が左巻きのらせん構造を形成することが示唆された。続いて、ECD スペクトルを測定すると、217nm で正の極大値、193nm で負の極小値をとる PPII 構造特有のスペクトルが観測された。両スペクトルの結果から、アラニン 3 残基が L 乳酸の影響を受けて PPII 構造のような左巻きらせん構造を形成していることが明らかにした。その一方で、鏡像異性体の D 乳酸に置換した誘導体の ECD スペクトルは 217nm で正の極大値を持つスペクトルが観測されず、アラニン鎖は PPII を形成していないことが判明した。このことから、L 乳酸 3 置換誘導体の左巻きらせん構造がアラニンの立体構造に伝播され、アラニン鎖の二次構造が PPII 構造のような左巻きらせん構造を形成することが示唆された。

本研究を通して、VCD によりポリ L 乳酸の詳細ならせん構造解析を行うことに成功し VCD の適用可能な化合物の範囲をポリエステルにまで拡大させたこと、又、L 乳酸の左巻きらせん構造を導入させることによってアラニン鎖の立体構造を PPII 構造のような左巻きらせん構造に誘導し制御させることに成功した。これらの結果を用いることにより、様々なポリエステルの液相中立体構造解析が可能になること、そして特定条件下においてらせん構造を制御しながら機能を発現させる人工タンパク質の創製に繋がることが期待される。