

(農工大院工) ○村岡貴博、石田敦也、(北里大理) 渡辺豪、
(東京医科歯科大脳統合機能研究センター) 味岡逸樹

両親媒性ペプチドは、疎水性相互作用や水素結合などの分子間相互作用により、様々な分子集合体を形成する。中でも、 β シート構造を基盤とするファイバー状集合体は代表例の一つであり、ヒドロゲル化剤として生物関連研究などへ用いられている。このような応用の際、ゲル強度は重要な物性である。通常、ゲル強度の調節は、相互作用形成に関わるアミノ酸構造の改変によって行われる。例えば、一般にフェニルアラニンなどの芳香族性側鎖を有するアミノ酸の導入は、疎水性相互作用の増大によりゲル強度を高めることが知られている。一方、水素結合形成に関わる主鎖アミド基の N メチル化は、水素結合形成を阻害するためゲル強度を低下させる。今回我々は、分子間相互作用形成に関わるアミノ酸構造の直接的な改変とは異なり、分子構造の自由度に着目した精密分子構造修飾によるゲル強度、熱安定性の調節について発表する。

一般に、分子集合体形成ペプチドへのグリシンの導入は、分子の構造自由度を増すことから、集合体構造の強度、安定性を低下させる。実際に、本研究において我々が着目した両親媒性ペプチド **1** においても、ある場所の一つのアラニン Ala1 をグリシンへ置換したペプチド (**1**-Ala1Gly) では、ゲル形成が見られなかったことから、グリシン置換による集合体形成を阻害する効果が見られた。しかし、興味深いことに、Ala1 の近傍のアラニン Ala2 をグリシン置換したペプチド (**1**-Ala2Gly) では、同一濃度において、対照的にゲル強度の著しい増大が見られた。いずれも、一つのアラニン残基をグリシンへ置換した構造であり、ペプチドを構成するアミノ酸の数、種類は同一である。アラニンからグリシンへの脱メチル化が、ペプチド中の場所のわずかな違いによって真逆の効果を与えたこの予想外の結果について、詳細なメカニズムの解明を行った。

円偏光二色性スペクトル、赤外吸収スペクトルによる分光学的な解析から、**1**-Ala2Gly は β シート構造に加えて、ランダムコイル構造の形成が顕著に見られた。これは、グリシン置換によって分子構造自由度が増大したことによると考えられる。一方、**1**-Ala1Gly では、主として **1** と同様の逆平行型 β シート構造の形成が確認された。さらに、詳細な円偏光二色性スペクトルの解析から、**1**-Ala1Gly は **1** と比べて、 β シート構造中で分子がよりねじれて配列していることが示唆された。このことから、分子集合体構造について違いが見られることが期待され、電子顕微鏡観察を行った。**1** の場合、ほぼ分子長と同じ幅を有し、直線性の高いナノファイバーの形成が確認された。一方、**1**-Ala1Gly では、複数本のナノファイバーがバンドル化した構造が多く観察された。従って、グリシン置換が分子集合体の高次構造形体へ影響を与えることが示され、この効果によってゲル強度の低下だけでなく、向上も可能になることが示唆された。

さらなる詳細な解析の結果、このグリシン置換は、ゲル強度の向上だけでなく、熱応答性を付与する効果も有することが明らかとなった。ペプチド **1** が形成するヒドロゲルは、80 °C までの温度上昇に対してゲル状態を保持する。円偏光二色性スペクトルにおいても、温度上昇過程で有意なスペクトル変化は見られなかった。一方、**1** より剛直なゲルを形成する **1**-Ala1Gly は、60 °C 付近からゾル状態への転移が見られた。円偏光二色性スペクトルにおいてもスペクトル形状の変化が見られたことから、集合体構造の変化が起因していると考えられる。

以上のように、本研究において我々は、一般に集合体構造の強度低下、不安定化を促すと考えられるペプチド中アミノ酸のグリシン置換が、置換部位によって特殊な高次構造形成により強度を増大させる一方、加熱によるゲル → ゾル転移を可能にする熱応答性を付与する、二面的な効果を与えることを見出した。この二面性は、通常行われる分子間相互作用形成に関わるアミノ酸の改変手法では見られないものであり、構造自由度に着目した本アプローチの一つの特徴と言える。

Small structural alteration in peptides affecting supramolecular fibril morphologies and mechanical properties, Takahiro MURAOKA, Atsuya ISHIDA, Go WATANABE, and Itsuki AJIOKA: Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24-16 Naka-cho, Koganei, Tokyo 184-8588, Japan; School of Science, Kitasato University; Center for Brain Integration Research, Tokyo Medical and Dental University, Tel: 042-388-7052, Fax: 042-388-7052, E-mail: muraoka@go.tuat.ac.jp