

|              |                                                                                   |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 両性電解質高分子によるタンパク質の保護作用とそのメカニズム解析                                                   |
| Author(s)    | 代, 先達                                                                             |
| Citation     |                                                                                   |
| Issue Date   | 2025-03                                                                           |
| Type         | Thesis or Dissertation                                                            |
| Text version | ETD                                                                               |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/10119/19936">http://hdl.handle.net/10119/19936</a> |
| Rights       |                                                                                   |
| Description  | Supervisor: 松村 和明, 先端科学技術研究科, 博士                                                  |

|               |                                                                                         |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | Dai Xianda                                                                              |
| 学 位 の 種 類     | 博士（マテリアルサイエンス）                                                                          |
| 学 位 記 番 号     | 博材第 600 号                                                                               |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 令和 7 年 3 月 21 日                                                                         |
| 論 文 題 目       | Design the polyampholytes in inhibiting protein aggregation and exploring its mechanism |
| 論 文 審 査 委 員   | 松村 和明 北陸先端科学技術大学院大学 教授                                                                  |
|               | 栗澤 元一 同 教授                                                                              |
|               | 松見 紀佳 同 教授                                                                              |
|               | 都 英次郎 同 教授                                                                              |
|               | 中路 正 富山大学 准教授                                                                           |

## 論文の内容の要旨

Protein plays a vital role in human activities. However, environmental factors often lead to protein aggregation, which has a serious impact on human health. In addition, certain protein drugs, such as insulin, also lose their efficacy due to degenerative aggregation and can even be life-threatening. Therefore, the inhibition of protein aggregation has become an important problem to be solved.

In this study, developed a polyampholytes electrolyte composed of  $\epsilon$ -polylysine and succinic anhydride, and comprehensively evaluated its protein protective effect. The experimental results show that this polymer can effectively protect a variety of proteins from thermal stress damage, and its effect is significantly better than that of previously reported zwitterionic polymers. In addition, I have synthesized derivatives with different hydrophobicity, further improving their protection efficiency. In particular, the polymer concentration required to achieve protein protection is extremely low. By promoting the retention of protein enzyme activity and stabilizing higher-order structures, these polymers allow proteins to remain in their natural state even after being subjected to extreme thermal stress.

Therefore, this polyampholytes electrolyte performs well in protecting proteins from extreme stress and has a wide range of applications, especially in protein biopharmaceutical and drug delivery systems. In addition, the synthesis process of the polymer is simple, low cost, and can play a good protective role at very low concentration, which lays a solid foundation for its large-scale application.

**[Keyword] Polyampholytes; hydrophobicity; protein protection; surface charge; low concentration.**

## 論文審査の結果の要旨

近年開発が盛んに行われている抗体医薬を中心としたバイオ医薬品の製造過程や輸送、保管時に凝集が起こり、活性が失われるという問題が指摘されている。これまで、数多くのタンパク質安定化剤が開発されてきたが、高濃度の投与量が必要であったりとその効果は限定的である。当研究室でこれまで高分子による保護物質を報告してきたが、分子設計による最適化が可能な一方で、現状10wt%程度の添加量が必要となるなど改良の余地が大きい。本研究では、これまで報告されてきた双性イオンポリマーによる保護機能を元に、あらたにポリペプチドの一種であるポリリジンを分子修飾することで効果の高い保護高分子を設計し、そのメカニズム解明に迫ることを目的とした。

ポリリジンのアミノ基の一部を無水コハク酸や 3,3 ジメチル無水グルタル酸およびドデシル無水コハク酸などでカルボキシル基に変換した両性電解質高分子を合成し、正電荷、負電荷、疎水性のバランスを制御し、それらの物質がリゾチームの熱凝集をどの程度保護できるかを検討した。その結果、カルボキシル基の導入率が 70-80%程度のアニオン性が高い高分子かつ、疎水性を導入した高分子で非常に高い活性を持つ事を確かめた。リゾチームを 90℃で 30 分間加熱というかなり過酷な条件で酵素活性を維持するためには、これまでのベタインポリマーのような双性イオン高分子では、10-15wt%程度の濃度が必要であったが、今回報告したポリマーでは 0.2-0.5%と 50 倍程度の低濃度でも保護可能であることを見いだした。

タンパク質は、熱刺激によりアンフォールドした際に疎水性アミノ酸同士が接触し、脱水和を経て不可逆なフィブリル化を起こす。両性の電荷を持つ高分子は、そのタンパク質との弱い相互作用により、タンパク質周囲に存在しているが、疎水性アミノ酸残基同士の直接的接触を阻害し、フィブリルの形成を抑制しているものと思われる。また、疎水性の導入により、疎水性アミノ酸への相互作用が向上し、より高い保護作用が得られると考えている。このようなメカニズムについて、タンパク質が構造的に不可逆的な相転移を起こすことによる、蛍光強度の温度依存性の線形性からの逸脱を調べる事で、高分子存在下では熱による変性後、フィブリル形成などの相転移を抑制することを確認し、上記のメカニズムを補強する結果が得られた。このような高分子によるタンパク質保護効果は、分子設計の自由度から、多くのタンパク質のオーダーメイド保護剤の開発などにつながる重要な成果であるといえる。以上、本論文は、学術的にも応用的にも貢献するところが大きい。よって博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。