

プログラム名：革新的研究開発推進プログラム(ImPACT)

PM名： 宮田令子

プロジェクト名：InSECT (進化を越える極微量物質の超迅速多項目センシングシステム)

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平成27年度

研究開発課題名：

インセクトデバイスにおける分子認識ペプチドプローブ設計

研究開発機関名：

国立大学法人東京工業大学

研究開発責任者

大河内 美奈

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

生活環境における多様な有害・危険物質に対する小型センシングシステムを開発するため、有害細菌・ウイルス、有害低分子およびPM2.5に含まれる金属粒子を検出対象として、ペプチドを用いた分子認識プローブを開発し、センシングシステムにおける対象分子の捕捉・濃縮および検出に用いることを目標とする。当該年度は、年度終了時にセンシングシステムを開発する共同研究機関に分子標的化ペプチドを各課題に対して1つ提供することを目標とし、各対象に対するペプチドスクリーニングを実施し、候補ペプチドの選定を図った。

課題(1) 細菌・ウイルス標的化ペプチドの探索

標的細菌・ウイルスに対して親和性を示すタンパク質およびリードペプチドの探索、リードペプチドの改変および定量的な親和性評価による選抜を目標とした。具体的には、生体の免疫防御機構に着目し、微生物認識受容体である Toll 様受容体のアミノ酸配列に基づいて設計した微生物認識ペプチドの結合評価を計画した。

課題(2) 有害低分子標的化ペプチド

標的有害低分子に対して親和性を示すリードペプチドの探索を目標とした。具体的には、爆薬の代表的な原料であり爆発物の分子マーカーとして知られるトリニトロトルエン (TNT) 及びジニトロトルエン(DNT)、トリメチレントリニトロアミン(RDX)に着目し、各爆発性化合物に対する抗体の抗原認識配列を解析し、リードペプチドの取得を図った。

課題(3) PM2.5 内に含まれる金属粒子、金属酸化物粒子に対する標的化ペプチド探索

PM2.5 を構成する代表的な金属粒子に対して親和性を示すペプチドの探索を目標とした。酸化金属微粒子に対して結合性が報告されているペプチド配列を調査するとともに、モデルとして金結合ペプチド探索による結合モチーフ解析を計画した。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

InSECT デバイスに用いるペプチド分子認識プローブを開発するため、各対象に対するスクリーニング系の最適化を図り、課題(1)~(3)において設定した各対象分子を認識する候補ペプチドプローブを探索・設計を進めた。

課題(1) 細菌・ウイルス標的化ペプチドの探索

微生物認識受容体である 2 種類の Toll 様受容体のアミノ酸配列に基づき、前年度までに複数の微生物認識ペプチドを同定した。これらのペプチドの結合特性を解析するとともに、ペプチド配列を残基置換などにより改変することで高親和性ペプチドの探索を行った。さらに、得られたペプチドをデバイスに装着し、機能性の評価を実施した。

課題(2) 有害低分子標的化ペプチド

爆薬 TNT、DNT 及び RDX に着目し、共同研究機関が開発した各爆薬抗体の認識領域を解析した。また、得られた配列情報に基づき候補ペプチド配列を設計し、残基置換などによる配列の改変を行うことで高親和性のペプチドを取得した。

課題(3) PM2.5 内に含まれる金属粒子、金属酸化物粒子に対する標的化ペプチド探索

幅広い PM2.5 に含まれる金属酸化物に着目し、代表的な金属酸化物に対して結合性を示すペプチドの文献調査を行った。また、ペプチドスポット合成法を利用し、金属材料に結合性を示すペプチドの探索試験を、金ナノ粒子をモデルとして実施した。

2-2 成果

課題(1) 細菌・ウイルス標的化ペプチドの探索

Toll 様受容体において、細菌表層に局在するリポ多糖を認識する Toll 様受容体 4 及びペン毛のフラジェリンを認識する Toll 様受容体 5 から取得した細菌結合ペプチドの結合特性を評価した。その結果、Toll 様受容体 4 及び 5 から探索したペプチドが、それぞれリポ多糖及びペン毛に対する結合性を示し、細菌表層の生体分子への標的化が達成された。また、これらのペプチドをデバイスに修飾することにより、検出シグナルの増大が可能であることを示した。

課題(2) 有害低分子標的化ペプチド

各抗体を産生するハイブリドーマ細胞から抽出した mRNA の遺伝子解析により爆薬 TNT 及び DNT、RDX を認識する可変領域部位のアミノ酸配列を明らかとした。さらに、TNT 抗体の可変領域のアミノ酸配列に基づきペプチドを設計し、TNT 類似物質との結合性を確認した。

課題(3) PM2.5 内に含まれる金属粒子、金属酸化物粒子に対する標的化ペプチド探索

酸化銅及び二酸化マンガンなど多数の金属酸化物に対するペプチド配列を文献調査により取得した。また、金属材料に結合性を示すペプチドの探索試験を、金ナノ粒子をモデルとしてスポット合成法で作製したペプチドアレイで実施したところ、高い親和性を示す多数のペプチドが探索され、これらのペプチドに共通する結合モチーフを見出した。

2-3 新たな課題など

課題(1)の細菌・ウイルス標的化ペプチド探索については、ペプチドプローブを様々なナノワイヤ・ナノポアデバイスに修飾し、その機能性評価を推進する。課題(2)の爆薬結合性ペプチドの探索においては、DNT 及び RDX に対するペプチドの設計を行い、得られたペプチドの改変による親和性の向上及び選択性の評価を実施する。課題(3)については、取得したペプチド配列情報を基に実際に PM2.5 に含まれる金属粒子及び金属酸化物粒子の標的化ペプチドを探索する。

3. アウトリーチ活動報告

東京ビックサイトで開催された「Nanotech2016 国際ナノテクノロジー総合展・技術会議」において本プログラムの紹介及び研究の進捗報告について講演した他、電気化学会主催の第 33 回夏の学校及び徳島大学で開催された化学応用工学女子学生大学院進学セミナーにおいて講演し、一部本プログラムの紹介を行った。また、東京工業大学にて開催した第 4 回日本生物工学会東日本支部会コロキウム世話人として企画・運営を行った。