

「医療に向けた自己組織化等の分子配列制御による機能性材料・システムの創製」  
平成14年度採択研究代表者

山下 一郎

(松下電器産業(株)先端技術研究所 主幹研究員)

「バイオのナノテクノロジーを用いたナノ集積プロセス」

## 1. 研究実施の概要

本テーマは、生物の持つナノテクノロジーを活用し、数ナノメートルサイズの無機ナノ構造を効率よく作製することをねらいとしている。タンパク質の内部空間で、バイオミネラル化を行いナノ粒子やナノワイヤを作製し、タンパク質のもつ自己組織化能により、ナノメートルサイズ素子のキーコンポーネントを自動的に作製することを目指す。

15年度は以下のような成果を得た。まず半導体ナノ粒子作製条件探索を中心としてバイオミネラル化の基礎的データ収集を行い、化合物半導体CdSeをフェリチン内に作製することに成功した。またかご状タンパク質の構造決定を行い高分解能のフェリチンの構造情報を得た。遺伝子工学的超分子構造構築については、ファージの部品であるベースプレート为基础とするタンパク質超分子構造作製の基礎的検討を行い、超分子構造構築への道筋をつけた。タンパク質の化学的修飾による量分子構造作製についてもタンパク質の化学修飾に成功した。

今後は、バイオミネラル化のメカニズムの解明をさらに進め、内部空間を持つタンパク質に任意の無機材料の内包を目指すとともに、遺伝子的手法やタンパク質の化学修飾により新しい機能性ナノ構造作製を行う予定である。

## 2. 研究実施内容

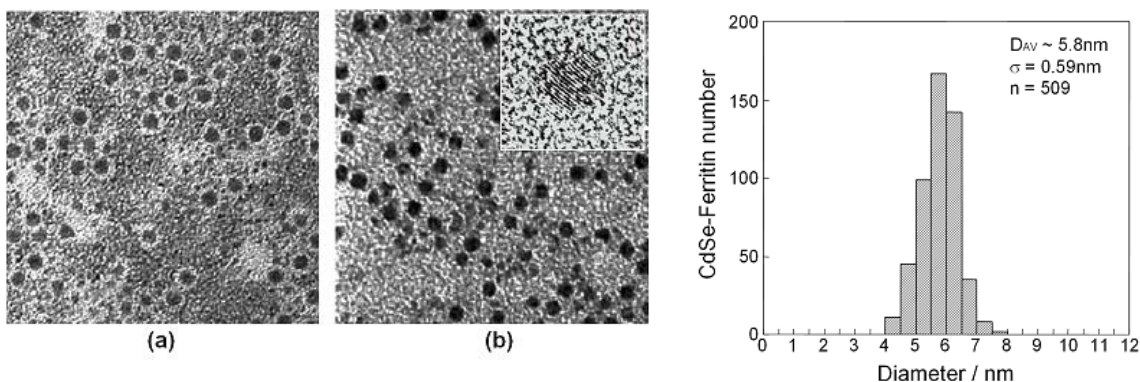
[バイオミネラル化]

かご状タンパク質、特にフェリチンや、Dpsなどを用い、その内部空間に無機材料を析出＝バイオミネラル化させてナノ粒子を作製させた。特に還元可能な金属化合物や半導体材料のナノ粒子作製を行った。

金属化合物：コバルトのナノ粒子作製の薬品濃度、溶液温度などの溶液条件を探索し、調整することで、ほぼすべてのフェリチンに酸化コバルトナノ粒子を合成させることに成功した。また明治大学と共同で、炭酸イオンを利用することによりニッケル、クロムについてもナノ粒子が合成できることを確認した。

化合物半導体：水溶液中で、プラスイオンとマイナスイオンであるCdとSeイオンはCdSe合成反応が極めて早いため、その化学反応を抑制した化学反応系を設計した。

その結果、フェリチン粒子内に直径約6nmのCdSeナノ粒子を合成することに成功した。また合成されたCdSeナノ粒子の直径分布も分散が少ないことが示された。



CdSe-ferritin のTEM像 (a)は金グルコース染色 (b)は無染色である。挿入写真はコアの高分解能TEM像

CdSeナノ粒子の直径分散

#### [フェリチン粒子のX線構造解析と熱安定性]

フェリチン粒子は、これまでも、鉄貯蔵の機能を解明するためその構造がX線構造解析で研究されてきているが、その構造とバイオミネラリゼーション、タンパク質超分子の形成メカニズム、温度安定性などの機能との関係をさらに詳しく調べるため放射光施設 Spring 8 を利用して、高分解能X線構造解析を進め、突然変異体を含めた構造解析に成功した。またフェリチン突然変異体の温度安定性についても計測データを得た。

#### [遺伝子工学的超分子構造体の構築]

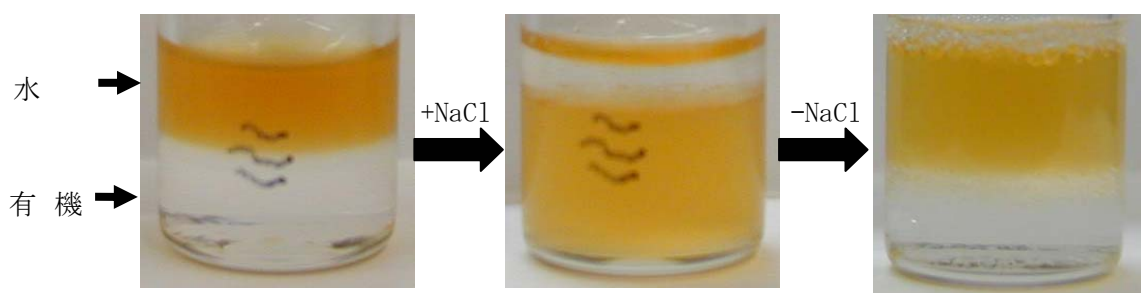
T4ファージのベースプレート遺伝子を変化させることで、内部に空間を持つ、新しい超分子構造体の構築を東京工業大学の研究協力を受けてはじめた。15年度はその基本構造設計を完成させ、プラスミド構築の具体的な計画を完成させた。16年度はタンパク質の発現を行うと同時に、TEMをはじめとしてそのキャラクタライゼーション手法を検討し研究を進める。

CREST同研究領域の「プログラマブル人工蛋白質からの組織体構築」研究チームで作製されたチタン表面を認識するペプチドを利用して、かご状タンパク質との複合体の設計を開始し、プラスミド構築を行い、その発現を確認した。16年度は出来上がったチタンバインドペプチド付フェリチンの機能解析を進める。

リング状TRAPタンパク質は多量体からなるリング構造を有し、このサブユニットを遺伝的に改質して、リング構造体を積み上げることによりチューブ状構造物を構築することを試み、電子顕微鏡による観察を開始した。またこのリング構造の内部にナノゴールドを析出させる試みも行った。16年度は得られたチューブ状構造体のキャラクタライゼーションを行う。

#### [タンパク質の化学修飾による機能付加]

かご状タンパク質とくにフェリチンのタンパク質殻外部に、DNAや種々の化学物質を、化学反応を利用して共有結合により固定することを試みた。その中でアルキル鎖（C10-C12）疎水性の分子を、カルボジイミド、Nヒドロキシスクシンイミド活性化試薬を利用して、フェリチンタンパク質に付加したものは、塩（NaCl）の添加により、疎水性・親水性の制御が可能であることが示され、タンパク質でありながら有機溶媒に分散させることが可能であった。



有機溶媒に可溶なタンパク質（フェリチン）の作製

### 3. 研究実施体制

#### バイオミネラルナノ構造グループ

①研究分担グループ長：山下一郎（松下電器産業(株)先端技術研究所、主幹研究員）

②研究実施項目：

- 球殻状超分子の変異株の作製とバイオミネラリゼーションのメカニズム解明
- 球殻状タンパク質の化学的修飾による複合粒子の作製
- 化学分子とタンパク質の相互作用を用いたナノ構造の構築
- 球殻状タンパク質の熱安定性の構造解析による考察

#### プロテインナノチューブ構造グループ

①研究分担グループ長：Jeremy Tame（横浜市立大学生体超分子システム科学専攻、教授）

②研究項目：

- リング状超分子の変異株の作製によるチューブ構造の構築
- リングタンパク質の化学的修飾および核酸鎖修飾による相互作用制御
- 球殻状、リング状タンパク質のX線構造解析