

研究開発構想(個別研究型)  
生体分子シークエンサー等の先端研究分析機器・技術

「トランスロコン型ナノポア計測法による1分子ペプチドシークエンサーの開発」

研究開発実施報告書(年次)  
令和6(2024)年度

研究代表者  
上村 想太郎  
東京大学 大学院理学系研究科・教授

## 1. 当該年度における研究開発の実施概要

### (1) 研究開発概要

従来のペプチド配列決定法では不均一混合試料が対象外になる点や試料を多量に必要とする欠点がありました。これを解決するために、トランスロコン型ナノポア計測法を開発し、機械学習を活用することによって、增幅できないペプチド分子を直接1分子レベルで配列決定します。さらに測定チップの多チャンネル化と集積化によって装置の小型化を実現します。

### (2) 実施内容と成果の概要（研究開発開始から当該年度末まで）

令和6(2024)年度

研究代表グループは、トランスロコンナノポア測定系の構築を進めました。安定な SecYEG-SecA 複合体 SecYAEG を脂質二重膜に挿入し、ペプチド、及び ATP の添加により、電流シグナル変化を検出することに成功しました。この結果はペプチド通過シグナルによってアミノ酸情報を取り出せる可能性を示唆するものであり、ペプチドシーケンサーへの応用が期待されます。

また、主たる研究分担者のグループでは、ナノポア計測に適した SecYEG-SecA タンパク質変異体の調製を進めました。また、in vitro 実験においては、SecYEG-SecA 複合体が基質と ATP 存在下で膜透過を引き起こすことを、高速 AFM 解析を用いて可視化しました(図1)。さらに、ナノポア計測に適したモデルタンパク質(ポリペプチド)の改良を進めました。タンパク質の膜透過にはシグナル配列が必要とされますが、このシグナル配列領域を改変することで、より透過しやすい条件を確立することに成功しました。この結果は、シグナル配列を持たないポリペプチドの解析に応用が期待されます。

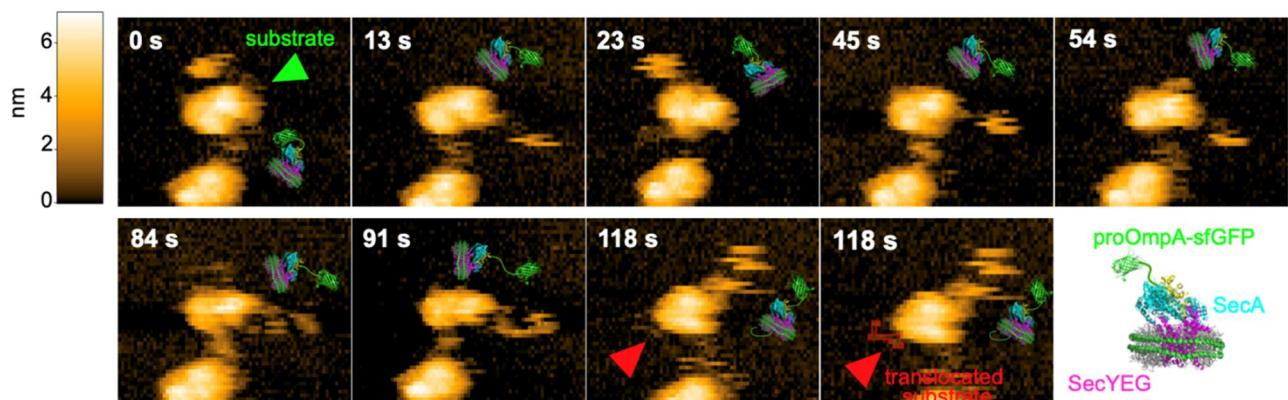


図1. SecYEG-SecA 複合体をペプチドが通過する様子を AFM で可視化した結果

## 2. 主たる研究分担者一覧

塚崎 智也（奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科・教授）