

2023 年度年次報告書

原子・分子の自在配列・配向技術と分子システム機能

2021 年度採択研究代表者

川野 竜司

東京農工大学 工学研究院

教授

自在配列設計ペプチドによるナノポアシステムの構築

主たる共同研究者:

白井 健二 (甲南大学 フロンティアサイエンス学部 准教授)

川村 出 (横浜国立大学 大学院工学研究院 准教授)

## 研究成果の概要

本プロジェクトは、アミノ酸配列を自在に設計し、脂質二分子膜中に機能を持つナノポアを構築することを目指している。本年度は、網羅的配列検討を行うため、疎水性ペプチドを無細胞発現系や固相合成系で発現する技術を開発した。無細胞発現系では親水性アミノ酸の導入位置や個数、またリポソームを用いた発現系の最適化を検討した。固相合成では、光切断法を利用し疎水性凝集を起こす前に脂質膜に導入する方法の検討を行った。これにより、脂質膜中で任意の $\beta$ バレルナノポアを形成する基盤が確立され、計算進化工学や分子進化工学を用いてペプチド配列を最適化する技術に応用する。

ペプチドの会合数を直接的に決定する手法も検討し、6~8量体のナノポア形成を実験的に確認できた。さらに、SVG28ペプチドナノポアを用いた一分子検出で、一アミノ酸分解能の評価が行われ、体積差の大きなアミノ酸の認識に成功した。

今後は、無細胞発現系でのペプチドナノポアの発現を基盤に、計算機での設計と組み合わせペプチド配列の網羅的な探索を進め、膜貫通部分のアミノ酸配列の進化を行う予定である。また、ナノポアの進化や非天然構造の検討、一分子検出結果の機械学習による評価法の確立を目指す。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) Y. Numaguchi, K. Tsukakoshi, N. Takeuchi, Y. Suzuki, K. Ikebukuro, R. Kawano, “Real-time monitoring of the amyloid  $\beta$ 1–42 monomer-to-oligomer channel transition using a lipid bilayer system” *PNAS Nexus*, 3, 1, pgad437, (2024).
- 2) K. Izumi, J. Ji, K. Koiwai, R. Kawano, “Long-term stable liposome modified by PEG-Lipid in natural seawater” *ACS Omega*, 9, 9, 10958-10966 (2024)
- 3) Z. Peng, S. Iwabuchi, K. Izumi, S. Takiguchi, M. Yamaji, S. Fujita, H. Suzuki, F. Kambara, G. Fukasawa, A. Cooney, L. Di Michele, Y. Elani, T. Matsuura, R. Kawano, “Lipid vesicle-based molecular robots” *Lab on Chip*, 24, 996-1029 (2024).