

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

2022 年度
年次報告書

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:

臼井 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

本プロジェクトの目標は、アミノ酸配列を自在設計し、脂質二分子膜中に望みの機能を持つナノポアを構築すること、またそれをシステム化することにある。本年度は主に二つの目標、1:網羅的な配列探索を行うため β ヘアピンペプチド(SVG28)の簡易合成法の確立、2:ポア形成 β ヘアピンペプチド(SVG28)の膜中での会合数の決定、を設定し研究を進めた。

目標 1 に関して、これまでの O-アシル法を用いた化学合成法では合成・精製に時間と手間がかかるため、無細胞発現系、及び固相合成の際に樹脂からペプチドを光照射で切り出し精製を経ずに膜に導入する光リンカー法、について検討を行った。無細胞発現系では、疎水性の高い SVG28 を発現できなかったため、MD シミュレーションでの検討から、膜貫通部位の直外に親水性の D を導入したところ発現・ナノポア形成に成功し、ポリペプチドの一分子計測にも成功した。光リンカー法では、通常の Fmoc アミノ酸のみを使用した合成・精製条件検討を行った。

目標 2 に関して、SVG28 の膜中における固体 NMR 分析、ゲル電気泳動を行った。固体 NMR 測定からペプチド同士の会合状態を見積もるために、NMR-spin-counting 法について検討し 3 量体までのカウントに成功した。またゲル電気泳動でも会合状態の評価を行った。

その他の研究状況として、SVG28 やそのターン部分を改変した複数のナノポアペプチドを設計し、一分子計測を行った。また L 体 D 体の交互配列による膜貫通 β ヘリックス型ナノポアの設計・合成・電流計測を進めた。小分子認識ナノポアを構築するため、NCS 含有小分子結合ペプチドの合成を行った。疎水性ペプチド/タンパク質の固体 NMR 構造解析法の開発のために、新規設計した疎水性ペプチドによる超分子構造形成およびタンパク質の反応中心の特異的な化学シフト変化を計測する方法を構築した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) S. Fujita, I. Kawamura, R. Kawano “Cell-free expression of de novo designed peptides that form β -barrel nanopores” ACS Nano, 17, 3358-3367 (2023).
- 2) Y. Araki, H. Shirakata, T. Nakagawa, T. Ubukata, Y. Yokoyama, I. Kawamura “Fluorescent hydrogel based on self-assembling acridonylalanine-phenylalanine” Chem. Lett. 7, 687-689 (2022).
- 3) S. Suzuki, S. Kumagai, T. Nagashima, T. Yamazaki, T. Okitsu, A. Wada, A. Naito, K. Katayama, K. Inoue, H. Kandori, I. Kawamura “Characterization of retinal chromophore and protonated Schiff base in Thermoplasmatales archaeon heliorhodopsin using solid-state NMR spectroscopy” Biophys. Chem. 296, 106991 (2023).