

「プロセスインテグレーションに向けた高機能ナノ構造体の創出」
平成 20 年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

浜地 格

京都大学大学院工学研究科・教授

動的応答特性を有するナノ構造体の構築と精密バイオ機能化

§1. 研究実施体制

(1)「浜地」グループ

① 研究代表者: 浜地 格 (京都大学工学研究科、教授)

② 研究項目

- ・ 細胞機能を評価／可視化するプローブ分子の開発
- ・ 細胞内包／固定化を指向した刺激応答性超分子ヒドロゲルの開発と機能化

§2. 研究実施内容

本研究では、(1) 細胞／組織バイオイメージングを目指したボトムアップ型ナノ構造体の創製、(2) トップダウンと連携した細胞固定・制御を目指したソフトマテリアルの開発を目標に研究を進めている。

本年度は、(1) に関して、前年度までに発見したこれまでにない新しい MRI シグナルスイッチング原理：ナノサイズの自己集合型ナノクラスターの蛋白質選択的な崩壊に伴う¹⁹F-NMR シグナルのスイッチングと¹⁹F-MRI の turn-on イメージングを、異なる検出モダリティである蛍光シグナル変化へ展開し、かつそれによって生細胞膜蛋白質のオフオン可視化が可能となることを明らかにした。また、生細胞系での応用を実現するために、自己組織化モジュールとも呼ぶべき分子ユニットの導入が大事であるという分子設計に置ける重要な知見も得た。具体的には、これまでの設計指針を基盤として、ガンの疾病バイオマーカーとして知られているタンパク質である葉酸受容体および特に低酸素環境下のガン細胞において過剰発現が誘導される炭酸脱水酵素 IX を標的とした、自己組織化 off/on-ナノプローブ創製に成功した。いずれの場合も、自己組織化ナノイメージングプローブは、(i) 葉酸受容体タンパク質あるいは炭酸脱水酵素 IX を認識できる小分子リガンド部位、(ii) 自己組織化能を担うジペプチド型会合モジュールおよび(iii) 比較的親水性のある蛍光プローブからなる。特に、細胞膜との非特異相互作用を抑える十分な安定性と、オフオン型の会合特性を保持したナノ集合体の構築が重要であることを見いだした。

(2) に関しては、前年度に開発した生体適合性が高いと期待されるペプチドを基本骨格とした刺激応答性超分子ヒドロゲルのバイオ関連物質に対する応答特性を大きく拡張することに成功した。具体的には、過酸化水素に応答するペプチドゲル化剤に、酸化酵素を安定に包埋固定化できることを見出し、また、様々な糖加水分解酵素によって分解することによって色調変化を伴ってゲル化する新規な糖脂質型ゲル化剤の開発に成功し、糖転移酵素など重要な生化学反応の簡便なアッセイ系への展開を進めている。このような超分子ヒドロゲルの酵素やその他のナノ材料との複合化やそれを活用した環境応答性の巨視的变化は、今後の細胞固定化後のセンシングや調節などに応用できると期待される。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Sho-hei Fujishima, Hiroshi Nonaka, Sho-hei Uchinomiya, Yoshiyuki Alex. Kawase,

- Akio Ojida, Itaru Hamachi, “Design of Multinuclear Zn(II) Complex as New Molecular Probe for Fluorescence Imaging of His-tag Fused Proteins”, *Chemical Communications*, 48, pp594-596, 2012 (DOI: 10.1039/c1cc16263b)
2. Tomonori Tamura, Shinya Tsukiji, Itaru Hamachi, “Native FKBP12 Engineering by Ligand-Directed Tosyl Chemistry: Labeling Properties and Application to Photo-Cross-Linking of Protein Complexes in Vitro and in Living Cells”, *Journal of the American Chemical Society*, 134, 2216-2226, 2012 (DOI: 10.1021/ja209641t)
 3. Masato Ikeda, Keisuke Fukuda, Tatsuya Tanida, Tatsuyuki Yoshii, Itaru Hamachi, “A Supramolecular hydrogel containing boronic acid-appended receptor for fluorocolorimetric sensing of polyols with paper platform”, *Chemical Communications*”, 48, 2716-2718, 2012 (DOI: 10.1039/c2cc17503g)
 4. Sho-hei Fujishima, Ryosuke Yasui, Takayuki Miki, Akio Ojida, Itaru Hamachi, “Ligand-directed Acyl Imidazole Chemistry for Labeling of Membrane-bound Proteins on Live Cells”, *Journal of the American Chemical Society*, 134, 3961-3964, 2012 (DOI: 10.1021/ja2108855)
 5. Masato Ikeda, Rika Ochi, Yu-shi Kurita, Darrin J. Pochan, Itaru Hamachi, “Heat-Induced Morphological Transformation of Supramolecular Nanostructures by Retro-Diels-Alder Reaction”, *Chemistry – A. European Journal*, 18, pp.13091-13096, 2012 (DOI: 10.1002/chem.201201670)
 6. Keigo Mizusawa, Yousuke Takaoka, Itaru Hamachi, “Specific Cell Surface Protein Imaging by Extended Self-assembling Fluorescent Turn-on Nanoprobes”, *Journal of the American Chemical Society*, 134, pp.13386-13395, 2012 (DOI: 10.1021/ja304239g)
 7. Rika Ochi, Kazuya Kurotani, Masato Ikeda, Shigeki Kiyonaka, Itaru Hamachi, “Supramolecular hydrogels based on bola-amphiphilic glycolipids showing color change in response to glycosidases”, *Chemical Communications*, 2012 (in press)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 1 件)