

平成 24 年度工学系共通経費による顕彰と研究助成 成果報告書

所 属	有機・高分子物質専攻
研究者 (ふりがな)	澤田 敏樹 (さわだ としき)
タイトル	繊維状ウイルスの工学的利用による新規ソフトマテリアルの創製
助 成 名	新任助教研究助成
採択金額	1,000,000 円
<p>研究の背景</p> <p>ハイドロゲルは、基礎ならびに応用研究のターゲットとして近年益々注目されているソフトマテリアルである。本研究では、繊維状ウイルスを構成要素とした新奇なハイドロゲルの構築とそれらの利用の可能性について明らかにする。ファージは無毒であり、遺伝子産物であることから極めて高い単一性をもつ。さらに、合成化学的・遺伝子工学的に機能性基を導入可能であり、微量の大腸菌の添加により数時間の内に最大百万倍に増幅できる。これらの優れた特徴を利用し、表面近傍から内部まで均一な構造をもつハイドロゲルを構築する。細胞培養のためのマトリックスとして応用することで、任意の機能を付与した高機能性ハイドロゲルの構築を目指す。</p>	
<p>結果と考察</p> <p>繊維状ウイルスの一種である M13 ファージを用いた。M13 ファージのゲノム遺伝子を制限酵素によって切断し、任意のペプチドをコードした DNA を挿入して目的のファージを構築するための DNA を構築した。構築したファージミド DNA を大腸菌に形質転換することで望みの機能性ペプチドを末端に提示したファージを調製した。機能性ペプチドには HA、FLAG、Myc と呼ばれるタグペプチドを用いた (配列はそれぞれ HA: YPYDVPDYA, FLAG: DYKDDDDK, Myc: EQKLISEEDL)。一方で、用いたタグペプチドそれぞれに特異的に結合する抗体を金ナノ粒子上に固定化した。HA ペプチドを提示したファージとそれに特異的に結合する抗体を固定化した金ナノ粒子とを適切な濃度において混合すると、ハイドロゲル化する様子が観察された。ペプチドをもたない野生型 (WT) ファージを用いた場合や、抗体あるいはナノ粒子を加えなかった場合にはハイドロゲル化する様子が観察されなかった。すなわち、両者が特異的に相互作用しない場合においてはハイドロゲル化しなかったことから、特異的な相互作用を駆動力として自己組織化が起こり、結果としてハイドロゲル形成したものと考えられる。動的粘弾性測定の結果、全ての振動数において貯蔵弾性率の値は損失弾性率の値を上回っており、ただの粘長な液体ではなくハイドロゲル形成していることを明らかにした (図)。</p> <p>吸収スペクトルを測定した結果、ハイドロゲル内において金ナノ粒子が一次元的に配列しており、さらにこの配列化はファージ濃度依存的に起こることがわかった。透過型電子顕微鏡による観察の結果、金ナノ粒子の一次元的な配列が確認できた。また金ナノ粒子間の距離は密接にパッキングしており、ナノ粒子上の抗体を介してファージ末端の抗原ペプチドが架橋しているものと考えられる。</p> <p>さらにハイドロゲルの強度を定量的に評価した結果、ファージ末端のペプチドとナノ粒子上の抗体との相互作用がゲルの強度というマクロな物性にまで影響を及ぼすことがわかつ</p>	

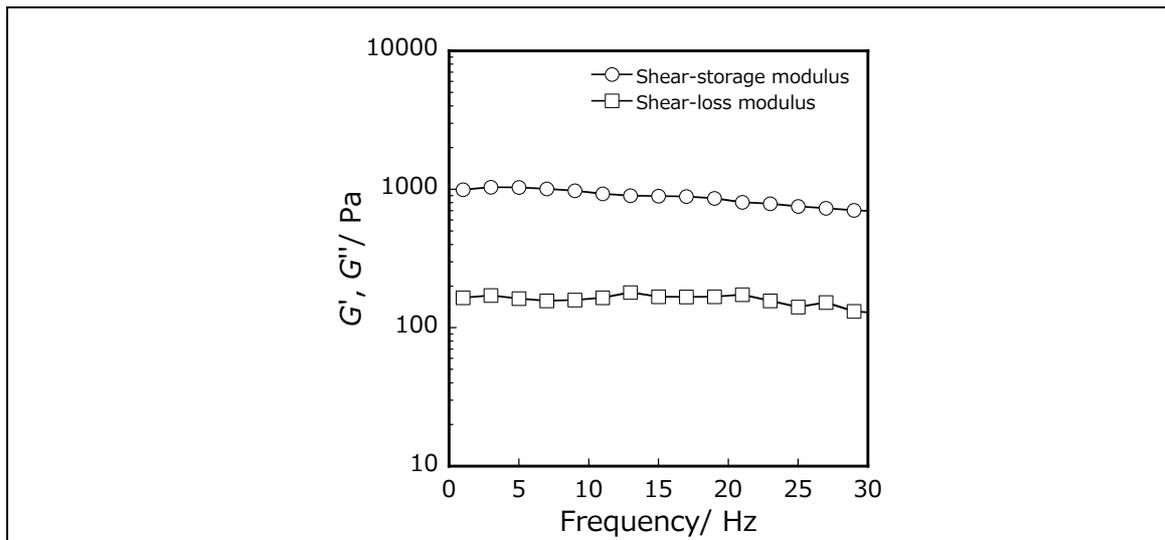


図 構築したハイドロゲルの動的粘弾性測定結果

た。つまり、巨大なウイルスの末端に存在するわずか 10 残基程度のペプチドの分子認識が、構築されるハイドロゲルのマクロな構造特性にまで影響を及ぼすことがわかった。

結論と今後の課題

特異的に相互作用するよう分子設計して調製した繊維状ウイルスと金ナノ粒子を適切な濃度で混合することで、新しいハイドロゲルを構築することができた。これらの結果は、繊維状ウイルスが新規マテリアルの構成要素として有用であり、さらに末端における相互作用制御が重要であることを強く示している。今後は、構築したハイドロゲルに機能性基を導入し、機能性ハイドロゲルとして利用することが課題である。

使用内訳書

費 目	内 訳	金 額
備品 1		
備品 2		
消耗品	化学・生化学試薬等	1,000,000 円
旅 費		
その他		
合 計		1,000,000 円

記入上の注意：

備品は、品名ごとに記入。

差額が生じた場合は、消耗品で調整。

消耗品を購入しなかった場合は、経費の差額と補填した予算科目名を合計額の内訳欄に記入。