



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Control of Self-Assembly Using Multiple Modified Amyloid Peptides for Functionalized Nanowires and Nanocircuitry [an abstract of entire text]
Author(s)	坂井, 公紀
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第11142号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53912
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroki_Sakai_summary.pdf



学 位 論 文 要 約

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 坂 井 公 紀

学 位 論 文 題 名

Control of Self-Assembly Using Multiple Modified Amyloid Peptides for Functionalized Nanowires and Nanocircuitry

(複数の修飾アミロイドペプチドを用いる機能化ナノワイヤーおよびナノ回路のための自己組織化制御)

機能化ナノワイヤーは、その一次元性に由来する様々な有用な性質から、ナノデバイスからバイオナノ材料に至る幅広い分野への応用が期待されている。このことから、多様な機能化ナノワイヤーの効率的な作製法の開発は極めて重要である。アミロイドペプチドは、自己組織化により幅数 nm、長さ数 μm オーダーの安定で剛直なナノワイヤー構造をもつアミロイド線維を形成する。この自己組織化能と、機能修飾が容易なペプチドの性質から、アミロイドペプチドは機能化ナノワイヤー作製のためのビルディングブロックとして期待されている。しかしながら、アミロイドペプチドへの機能化修飾部位の付加は、自己組織化に大きく影響を与え、線維構造の著しい破壊や線維形成自体の阻害を引き起こす。このため、線維に導入可能な機能分子の種類や量が大きく制限されることが重大な問題となっている。したがって、アミロイドペプチドの自己組織化を制御する手法が強く求められている。また、ナノデバイスへの応用には機能性ナノ回路を構築することが必須であり、このために、ナノワイヤーのパターン形成の技術が求められている。このような状況に対して、本研究では、当研究室でデザインした 3 アミノ酸残基ユニット付加ペプチド（構造制御アミロイドペプチドまたは SCAP）の混合に基づいた、非常に効果的な自己組織化制御法である「混合 SCAP 法」を確立し、本手法が機能化ナノワイヤー形成に極めて汎用的であることを実証した。また、混合 SCAP 法による自己組織化制御メカニズムの解明およびナノワイヤーのパターン化法の開発を通して、ナノデバイス創製の鍵となる機能性ナノ回路作製へのアプローチを提案した。

本論文は全五章で構成されている。

第一章では、機能化ナノワイヤーのナノテクノロジー分野への有用性と、アミロイドペプチドを用いた機能化ナノワイヤー作製に関する過去の研究例と問題点について指摘している。また、アミロイドペプチドのオリゴマー化メカニズムの研究に用いられるイオンモビリティ質量分析法の理論と、ペプチドによる無機ナノ粒子形成法であるバイオミネラリゼーションに関して述べている。

第二章では、混合 SCAP 法による機能化ナノワイヤーの形成制御を実施した。アミロイドペプチドとしてトランスサイレチンタンパク質由来の TTR(105-115)ペプチドを選択し、N 末端に Lys₃ および Glu₃ ユニットを導入した各種 SCAP (K₃-TTR および E₃-TTR) を合成した。これらを混合 SCAP 法により 1 : 1 のモル比で混合することで、過去最大のアスペクト比を有する超長鎖アミロイド線維 (>40 μm) が形成されることを見出だした。また、混合 SCAP 法に基づき機能化ナノワイヤーを形成させるため、SCAP の N 末端に様々な機能分子（テトラメチルローダミン）やプローブ分子（ビオチン/ α リポ酸/マレイミド/アジド）を修飾した F-SCAP および P-SCAP を合

成した。これら修飾 SCAP は単独では全く線維形成しなかったものの、混合 SCAP 法を適用することで、構造破壊や形成阻害を伴わずに、極めて効率的に長鎖線維を形成した。F-SCAP では1ステップで効率的に機能化ナノワイヤーを形成させ、P-SCAP では導入したプローブ分子を介した機能分子（アビジン磁気ビーズ/金ナノ粒子/バイオミネラリゼーションペプチド）による線維の多様な機能化を達成した。さらに、バイオミネラリゼーションと組み合わせることで線維上に目的の無機ナノ粒子を特異的に形成させることにより、線維を無機ナノワイヤー化する技術を確立した。

第三章では、オリゴマー形成および線維伸長過程に見られる構造変化の詳細な解析を通して、混合 SCAP 法による長鎖線維形成メカニズムを明らかにした。イオンモビリティ質量分析法は、イオン化したペプチドを、質量電荷比およびサイズで分離することにより、オリゴマーの分布および構造の両方を解析可能であり、これに基づき、混合 SCAP によるヘテロオリゴマー化により「ユニークな伸展型構造をもつ高次オリゴマー形成」が誘起されることを解明した。この伸展型構造は、線維中に存在するペプチドの β 構造と等価である。次に、原子間力顕微鏡により線維伸長過程を解析した結果、混合 SCAP はプロトフィブリル中間体から成熟線維への構造変化を著しく促進することを見出だした。以上の結果から、混合 SCAP は、オリゴマー単位での伸長末端への付加、ならびにプロトフィブリルの成熟過程を促進によって、長鎖線維を形成する新規メカニズムを提唱した。

第四章では、ナノワイヤーのパターン化法として、線維の配向・配置の制御法を開発した。基板上に構築した流路を用いる Flow 法により、長鎖線維の目的方向への配向化を達成した。また、混合 SCAP 法により形成させた機能化ナノワイヤーを用いることで、任意の機能分子を長距離に渡って配列させることに成功した。一方、基板上に存在する金ナノ粒子を、超音波破碎した特異的な線維により播種することにより、単一の金ナノ粒子から線維伸長を開始させる線維の配置制御法を確立した。これらはナノデバイスの基礎となる機能性ナノ回路の作製において有用なパターン化技術である。

第五章では、本研究で得られた結果を総括し、混合 SCAP 法の応用の可能性について述べている。混合 SCAP 法により、ナノデバイスやバイオナノ材料のなどの幅広い分野で利用可能な種々の機能化ナノワイヤーの調製が可能であると期待される。また、長鎖線維形成のメカニズム的知見は、線維長制御への論理的アプローチを与えるものと考えられる。混合 SCAP 法による機能化、線維構造制御およびパターン化技術の融合により、ナノデバイスの開発への新規展開が開かれると期待される。一方、アミロイド線維形成は、アルツハイマー病を始めとする、数多くの重篤な疾患にも関与しており、混合 SCAP のメカニズム的知見に基づき、治療戦略開発や疾患メカニズムの解明に繋がる可能性が期待される。

以上、本研究では、アミロイドペプチドの自己組織化を非常に効果的に制御する混合 SCAP 法を開発し、混合 SCAP 法の機能化ナノワイヤー形成に対する汎用性、ナノワイヤー構造制御に対する有用性、パターン化に対する利便性を示した。本研究により得られた成果は、アミロイドペプチドを基盤とした自己組織化ナノテクノロジー分野へ大きく貢献するものと期待される。