

単一粒子ナノ加工法による高生理活性を有する生体高分子ナノワイヤの形成

Fabrication of protein nanowires with high bioactivity using single particle nano-fabrication technique

大道 正明^{1,2)} 佃 諭志³⁾ 杉本 雅樹⁴⁾ 関 修平²⁾

Masaaki OMICHI Satoshi TSUKUDA Masaki SUGIMOTO Sue SEKI

¹⁾阿南工業高等専門学校 ²⁾大阪大学 ³⁾東北大学 ⁴⁾原子力機構

(概要)

我々は、単一粒子ナノ加工法によって 1000 を超える高アスペクト比を有するタンパク質ナノワイヤの形成に成功した。このタンパク質ナノワイヤ表面をビオチン標識することで、タンパク質ナノワイヤが Horse radish peroxidase 結合の Streptavidin (Streptavidin-HRP) と高い結合親和性を示し、ペルオキシダーゼ活性を持つことを確認した。今後、本手法を用いてさまざまな生理活性を持つタンパク質ナノワイヤの形成を試み、ドラッグデリバリーシステム、高感度センサーへの応用を予定している。

キーワード：粒子線、単一粒子ナノ加工法、タンパク質、ナノワイヤ、生理活性

1. 目的

高アスペクト比を有するタンパク質ナノワイヤはドラッグデリバリーシステム、ナノアクチュエーター、高感度センサーなどさまざまな分野への応用が期待されている。単一の高エネルギー荷電粒子をタンパク質に照射することで、粒子の飛跡に沿った円柱状の領域に高密度にエネルギーが付与される。そうすると、その部分のタンパク質分子間に架橋反応が起こる。架橋していない部分を水や緩衝液で溶解させることで、均一な高アスペクトなタンパク質ナノワイヤが形成できる。本研究では、このタンパク質ナノワイヤに生理活性を付与することを目的とした。

2. 方法

UV/O₃ 処理を行ったシリコン基板上にヒト血清アルブミン (HSA) 薄膜を成膜した。成膜後、真空条件下 (< 1×10⁻⁴ Pa) において 490 MeV ¹⁹²Os³⁰⁺ の粒子線を線量 1.0 × 10⁹ ions cm⁻² で照射した。粒子線照射後、リン酸緩衝生理食塩水で現像を行い、HSA ナノワイヤを作成した。HSA ナノワイヤを NHS-biotin 溶液に浸漬して、ビオチン化を行った。ビオチン化 HSA ナノワイヤを Streptavidin-HRP 溶液に浸漬し、Streptavidin-HRP が結合したビオチン化 HSA ナノワイヤのペルオキシダーゼ活性を測定した (Figure 1a)。

3. 結果及び考察

Figure 1b に Streptavidin-HRP が結合したビオチン化 HSA ナノワイヤのペルオキシダーゼ活性を示す。ビオチン化していない HSA ナノワイヤに比べて、ビオチン化 HSA ナノワイヤは 10 倍以上のペルオキシダーゼ活性を示した。これは Streptavidin-HRP がビオチン化 HSA ナノワイヤと高い結合親和性を示したためであると考えられる。Streptavidin-HRP の HRP の代わりに結合タンパクの種類を変えることによって、ビオチン化 HSA ナノワイヤに様々な生理活性を持たせることが可能であり、本手法はさまざまな分野への応用が期待される [1]。

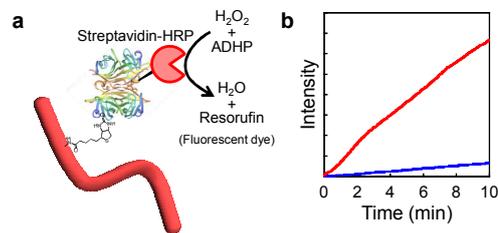


Figure 1. (a) Scheme showing streptavidin conjugated horseradish peroxidase (HRP-streptavidin) onto biotinylated HSA nanowires. (b) Time course of the peroxidase reaction. (red) Biotinylated HSA nanowires + HRP-streptavidin. (blue) HSA nanowires + HRP-streptavidin.

4. 引用(参照)文献等

1. Omichi, M.; Asano, A.; Tsukuda, S.; Takano, K.; Sugimoto, M.; Saeki, A.; Sakamaki, D.; Onoda, A.; Hayashi, T.; Seki, S. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3718.