

2018年7月26日(木)

# 人工タンパク質ナノ粒子の集合を利用した物質材料

慶應義塾大学  
理工学部 生命情報学科

専任講師 川上 了史

## ■ 新技術の概要

人工タンパク質ナノ粒子を集合させ、沈殿を形成させることができた。この沈殿は温度に応答して水中で透明・不透明が変化する性質を示した。温度応答は本来可逆的であるが、不可逆性も与えられる。また、この沈殿の内部 pH は溶液 pH と異なり、同じ液中で局所的に pH が異なる空間を形成することができる。

## ■ 従来技術・競合技術との比較

温度計とデータロガーを組み合わせれば温度履歴の記録は可能となるが、小型化・大量生産・廃棄の点は考慮されていない。本技術は、態様の自由度・温度履歴機能・大量生産・安全面が考慮可能となる。pH については、環境や細胞中等での測定となり周囲の影響を受けるが、本技術によって pH 管理された空間で測定を行うことが可能となる。

## ■ 新技術の特徴

- 可逆的な透明化・不透明化の温度応答性を示す
- 沈殿の内部に触媒を閉じ込めることができる
- 蛍光分子を導入することもできる

## ■ 想定される用途

- 生鮮食品などの温度管理材料
- pH 管理が必要な酵素反応
- 簡易環境水分析キット

# 人工タンパク質ナノ粒子の 集合を利用した物質材料

慶應義塾大学理工学部  
生命情報学科  
専任講師 川上了史



Truncated Icosahedral Protein composed of  
60-mer proteins (TIP60)  
(切頂20面体タンパク質)

いわゆるサッカーボール形状



20 nm 程度の直径  
表面電荷が負に帯電  
容易に集合/解離を制御可能

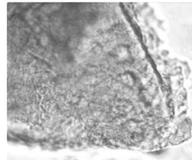
## TIP60の集合体形成について



1 mg/mL TIP60

+ カチオン性物質

沈殿物を顕微鏡下で観察

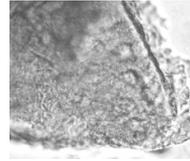


集合体を形成する。

具体的利用方法が提案できるような性質はく明らかではなかった。

## 本日の発表内容

沈殿物を顕微鏡下で観察

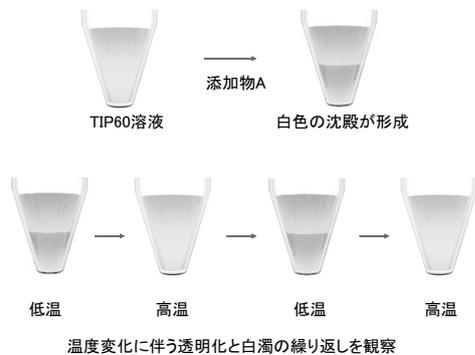


1. 特殊な製法で作る沈殿物を利用し  
た、温度応答性材料や、pH環境の局  
所的な違いの創出について

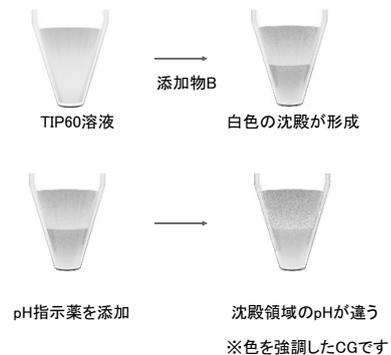


2. TIP60にも手を加えることで、多機能  
性材料へと発展させられる可能性につ  
いて

## 温度応答性のTIP60集合体



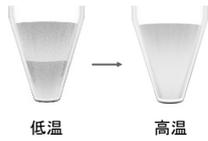
## TIP60集合体内部のpH



## 応用可能性

新技術説明会

### 温度依存的な集合体の透明度変化



簡易温度計  
データロガーを必要としない、温  
度履歴の記録材料

### 集合体内部のpH変化

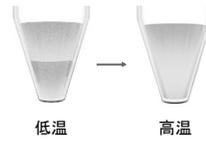
新規固定化酵素の構築法  
分子密度の高い空間のモデル構造を提供



## 企業への期待1

新技術説明会

### 温度依存的な集合体の透明度変化



簡易温度計  
データロガーを必要としない、温  
度履歴の記録材料

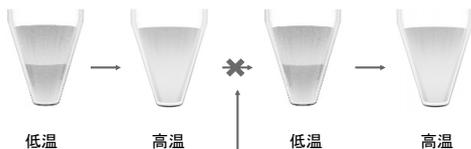
袋に封入した形での利用が望まれる。

蛋白質溶液のパッケージング技術を持つ企業  
大量精製系が実現できる企業  
食品や臓器の保存などのモニタリングを必要とする企業

## 企業への期待2

新技術説明会

### 温度依存的な集合体の透明度変化



不可逆性を与える！

特定の温度を超過したかどうかを知ることができる。

低温輸送時の温度履歴の可視化材料

運送関連の温度保証を必要とする企業

## 企業への期待3

新技術説明会

### 集合体内部のpH変化

新規固定化酵素の構築法  
分子密度の高い空間のモデル構造を提供



同一水溶液中に異なるpH環境を複数調製できる。

pH制御が必要な多段階反応のワンポッド化

細胞内環境の模倣や凝集・解離を対象とする、バイオ関連キットを手がける企業

ローカルなpH環境を蛍光でモニターしたい企業

## 企業への期待4

新技術説明会



化学修飾による機能改変を実現

TIP60単体での利用用途が拡大

電場に応答する低分子輸送機構の構築  
薬物輸送体にも利用可能

集合体との組み合わせ

検出機構の組み込みにより高感度な温度履歴記録材  
料への発展  
化学修飾によるpH環境の変更

集合体に関わらず、ご興味をお持ちの企業の方は、ぜひご連絡ください。

## 本技術に関する知的財産

新技術説明会

発明の名称：融合タンパク質、構造体、捕集剤、  
捕集する方法、DNA、及びベクター

国際出願番号：PCT/JP2017/032092

出願人：学校法人慶應義塾

発明者：川上了史、近藤宏紀、宮本憲二

お問い合わせ先

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

慶應義塾大学 研究連携推進本部

URL : [https://wwwdc01.adst.keio.ac.jp/kj/  
rcp/contact/index.html](https://wwwdc01.adst.keio.ac.jp/kj/rcp/contact/index.html)

TEL : 03-5427-1439

FAX : 03-5440-0558

E-MAIL: [toiawasesaki-ipc@adst.keio.ac.jp](mailto:toiawasesaki-ipc@adst.keio.ac.jp)

2017年7月6日(木)

# アニオン性ナノ粒子として振る舞う 新規人工タンパク質超分子

慶應義塾大学  
理工学部 生命情報学科

専任講師 川上 了史

## ■ 新技術の概要

本技術は、本来幾何学的に異なる構造の構造体となるタンパク質において、フラーレン様やシート状の所望の構造を呈したタンパク質の作製及び利用に関する技術である。捕集剤やフィルター等の利用も含めて、当該構造と物性を組み合わせた新たな活用の可能性を模索している。

## ■ 従来技術・競合技術との比較

従来技術では、3量体と2量体とからタンパク質の構造体を作製した場合、幾何学的に異なる構造の構造体が必ず製造されるため、所望の構造を有する構造体のみを得ることができなかった。しかし、本技術を用いることで、構造の均一性の高いタンパク質の構造体の作製が可能となる。

## ■ 新技術の特徴

- 構造の均一性の高いタンパク質の構造体の作製が可能
- 本タンパク質の構造体の作製が簡便な方法により可能

## ■ 想定される用途

- 捕集剤（例えば、分析又は分取用のカラムの担体）
- フィルター（例えば、物質の集団中から目的の成分のみ単離）
- 固定化酵素

20170706 新技術説明会 新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

## アニオン性ナノ粒子として振る舞う 新規人工タンパク質超分子



慶應義塾大学理工学部  
生命情報学科  
専任講師・川上了史

1

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 目次

- 超分子設計
- 超分子構造解析
- タンパク質チップ形成と応用
  - ・固定化触媒としての応用
  - ・分子分離・捕集材料としての応用
  - ・環境分析キットへの応用
- タンパク質膜形成と応用
  - ・塗るディスプレイ材料としての応用

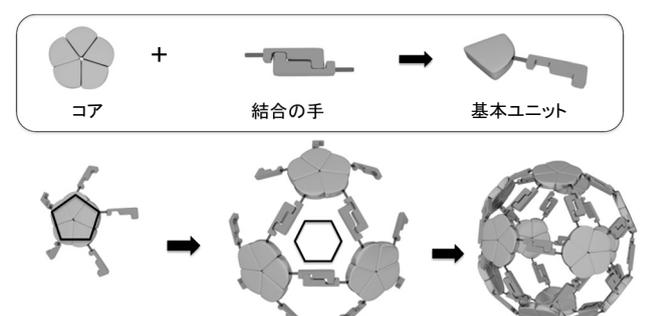
2

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 鑄型分子の設計

鑄型に必要な要素

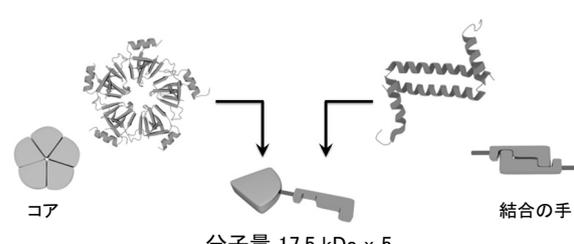
- 5角形のタンパク質 → コア
- 5角形を接続するタンパク質 → 結合の手



3

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 幾何学構造から選んだ鑄型分子



分子量 17.5 kDa x 5

目的に応じて、鑄型は変えられる。

4

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 目次

- 超分子設計
- 超分子構造解析
- タンパク質チップ形成と応用
  - ・固定化触媒としての応用
  - ・分子分離・捕集材料としての応用
  - ・環境分析キットへの応用
- タンパク質膜形成と応用
  - ・塗るディスプレイ材料としての応用

5

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 大腸菌発現系で一段階カラム精製が可能



Niカラムによる、一段階精製

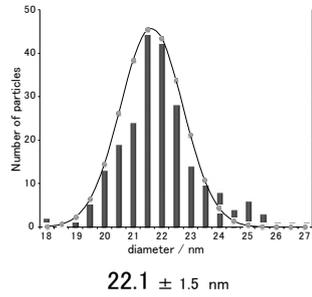
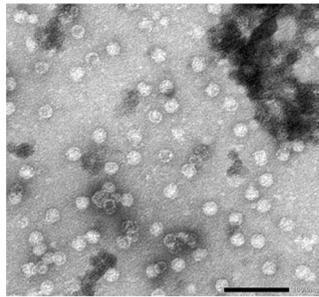
➡ 収量: ~20 mg/ L (大腸菌培養液)

より簡便な精製方法も検討中

6

精製した分子の電子顕微鏡像と粒子サイズ

新技術説明会



染色条件:  
2%酢酸ウラニル

7

超分子名称

新技術説明会



サッカーボール状の幾何学構造

切頂20面体

Truncated Icosahedron



× 60 分子



60-mer Truncated Icosahedral Protein

TIP60

8

目次

新技術説明会

超分子設計

超分子構造解析

タンパク質チップ形成と応用

- ・固定化触媒としての応用
- ・分子分離・捕集材料としての応用
- ・環境分析キットへの応用

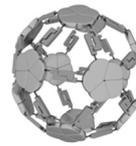
タンパク質膜形成と応用

- ・塗るディスプレイ材料としての応用

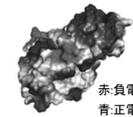
9

表面電荷に着目した集積化

新技術説明会



TIP60

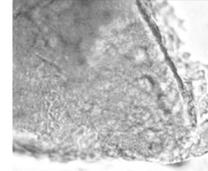


リゾチーム  
カチオン性タンパク質



赤:負電荷  
青:正電荷

沈殿物を顕微鏡下で観察



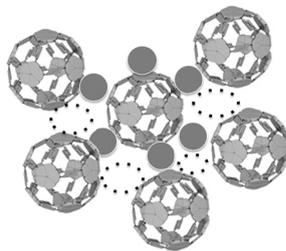
角のある、薄い構造体を確認。ランダムな凝集ではないと考えられる形状。

タンパク質チップ(仮)と命名

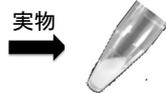
10

異なるタンパク質の固定化

新技術説明会



巨大なネットワークを形成



網目の隙間(例えば点線部分)に別のタンパク質を閉じ込める

GFP:  
蛍光タンパク質  
TbADH:  
耐熱性アルコール脱水素酵素

11

TIP60-Lysozyme-GFP 3元複合体の形成

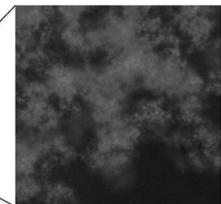
新技術説明会

集積化実験

TIP60 + GFP

Lysozyme

集積化



本当に取り込まれているか?

洗浄

遠心

GFPも沈殿するはず



洗浄後懸濁液



遠心後

取り込まれている!

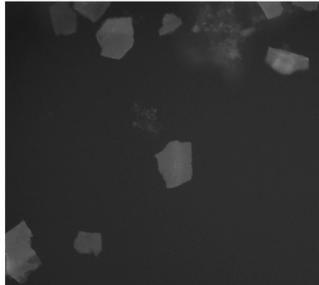
12

## TIP60-Lysozyme-GFP 3元複合体の形成

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting



拡大してみる。



幅 200  $\mu\text{m}$ 、厚さ10  $\mu\text{m}$ 以下のタンパク質チップ形成を確認。



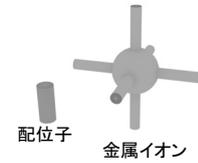
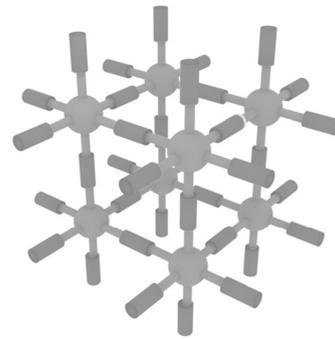
GFPが取り込まれたままチップ形成できる。

なぜ、このような形を形成できるのか？

13

## 多孔質ネットワーク構造体

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting



このようなネットワーク構造ができていますのでは？

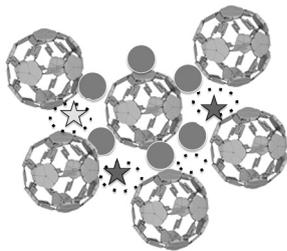
Metal Organic Framework (MOF)

14

## タンパク質チップの応用1

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

固定化触媒として利用



☆ 酵素1

★ 酵素2

酵素を同時に閉じ込められることを発見している。

複数種類を同時に閉じ込めることで、効率的な触媒の開発へ。

15

## 企業への期待

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

<固定化触媒技術の開発>



基質の選択的な取り込みを実現



[技術連携]  
既存固定化技術では利用できなかった酵素を所有しているような企業を希望

16

## タンパク質チップの応用2

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

キラル化合物や高分子の分離カラム担体としての利用  
あるいは、上記分子の選択的捕集材としての利用



規則的ネットワークを利用して、巨大分子の選択的認識を可能にできる。

アミノ酸で構成される特徴から、キラル認識能を付与できないか。

17

## 企業への期待

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

<タンパク質や合成高分子の分離技術の開発>



[共同研究]  
・分離技術を開発する企業を希望  
・特に、“巨大分子”の分離・捕集技術を開発する企業を希望

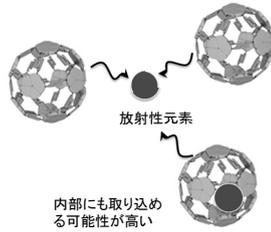
18

## タンパク質チップの応用3

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 放射性重元素の検出キットの開発

TIP60の金属結合能を利用した、環境分析キットの構築  
タンパク質チップを用いた金属捕集能は検討済み。



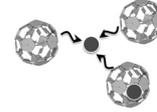
汚染度に応じて目視で観察できるようにする技術

19

## 企業への期待

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### <分子捕集材料→環境分析キットの開発>



#### [共同研究]

- ・環境サンプル中の元素濃度分析技術を有する企業を希望
- ・放射性化合物の定量、取扱技術を有する企業を希望

20

## 目次

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 超分子設計

### 超分子構造解析

### タンパク質チップ形成と応用

- ・固定化触媒としての応用
- ・分子分離・捕集材料としての応用
- ・環境分析キットへの応用

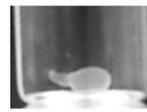
### タンパク質膜形成と応用

- ・塗るディスプレイ材料としての応用

21

## タンパク質膜

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting



TIP60を高濃度にする  
と得られる



TIP60に囲まれた  
空間ができる



内外で、TIP60によるフィルター効果  
が期待できる。

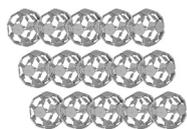
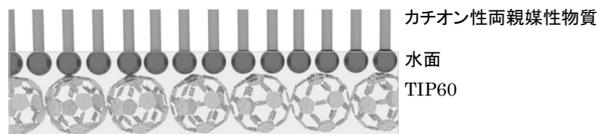
成形技術の向上で、自在に蛋白質膜を  
作り出せるようにならないか？

22

## タンパク質膜

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### 平面TIP60膜の構築



規則的な配置を達成できると、厚さなどで構造色と呼ばれる発色材ができるかもしれない。現在検討中。

### どんな用途？

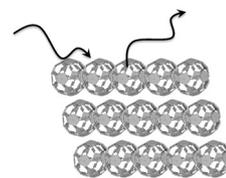
- 生体適合性
- 塗るディスプレイ
- カメレオンのように、色を変えられる被覆材料へ！

23

## タンパク質膜

新技術説明会  
New Technology Presentation Meeting

### カメレオンのように色調・体温制御を可能にする化粧品



- 近赤外反射
- 熱吸収の抑制
- 可視光反射
- 特定の色を発色

※20 mg(培養液1Lあたりの収量)で1 m<sup>2</sup>以上は塗布可能  
(ネイルアートなど、狭い面積なら応用可能)

24

<色調・体温制御を可能にする材料の開発>



[技術支援]

生体適合性や大量調製法を確立する必要があるため

- ・安全性を評価できる技術
- ・タンパク質の大量調製技術を有する企業を希望

[共同研究]

- ・構造色ディスプレイの評価技術を有する企業を希望

25

発明の名称 : 融合タンパク質、構造体、捕集剤、  
捕集する方法、DNA、及びベクター

出願番号 : 特願2016-174087[未公開特許]

出願人 : 学校法人慶應義塾

発明者 : 川上了史、近藤宏紀、宮本憲二

26

慶應義塾大学 研究連携推進本部

TEL : 03-5427-1439

FAX : 03-5440-0558

E-MAIL: [toiawasesaki-ipc@adst.keio.ac.jp](mailto:toiawasesaki-ipc@adst.keio.ac.jp)

27