



## 癌抑制タンパク質 p53 四量体形成ドメインと バイオミネラリゼーションペプチドの融合による 銀ナノ結晶構造制御に成功

### 研究成果のポイント

- ・癌抑制タンパク質 p53<sup>1)</sup> の四量体<sup>2)</sup> 構造のナノテクノロジーへの応用。
- ・バイオミネラリゼーションペプチド<sup>3) 4)</sup> の多量体<sup>2)</sup> 化による触媒的な銀ナノ構造制御に成功。
- ・多量体化バイオミネラリゼーションペプチドによるナノ構造制御機構の解明。

### 研究成果の概要

北海道大学大学院理学研究院化学部門の坂口和靖教授らの研究グループは、癌抑制タンパク質 p53 の自己組織化<sup>5)</sup> を制御している四量体形成ドメイン<sup>6)</sup> と、バイオミネラリゼーションペプチド (BMPep) の融合による、新しい銀ナノ構造制御法を開発しました。

本手法では、四量体化 BMPep を用いることによって、結晶性の六角形銀ナノプレート<sup>7)</sup> を形成させることに成功しました。また、驚くべきことに、この銀ナノプレート形成の際に四量体化 BMPep は消費されず、「触媒的<sup>8)</sup>」に銀ナノ結晶構造の精密制御を行うことが示されました。さらに、この触媒的制御は、BMPep の四量体によって、銀の特定の結晶面に対する結合の特異性と親和性が増強された結果であることを明らかにしました。

本手法は、BMPep と多量体形成ペプチドの融合による無機ナノ構造制御法を示しました。今後、この2種類のペプチドの組み合わせによって、様々な無機物に対するナノ金属構造の精密制御が可能となり、新しい高機能性材料開発に大きく貢献することが期待されます。

### 論文発表の概要

研究論文名: Oligomerization enhances the binding affinity of a silver biomineralization peptide and catalyzes nanostructure formation (銀バイオミネラリゼーションペプチドの多量体化による結合親和性の増強と触媒的ナノ構造形成)

著者: 坂口達也<sup>1)</sup>, Jose Isagani B. Janairo<sup>1)</sup>, Mathieu Lussier-Price<sup>2)</sup>, 和田隼弥<sup>1)</sup>, James G. Omichinski<sup>2)</sup>, 坂口和靖<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup> 北海道大学大学院理学研究院 化学部門 生物化学研究室, <sup>2)</sup> モントリオール大学 生化学・分子医学部門)

公表雑誌: Scientific Reports

公表日: 英国時間 2017年5月3日(水) (オンライン公開)

## 研究成果の概要

### (背景)

無機ナノ材料は、その種類・形状・サイズに応じて特異な性質を示します。特に銀ナノ材料は触媒活性や高い導電率を有する高機能材料として知られており、銀をはじめとする無機ナノ材料を応用するため、精密な構造制御法の開発が求められています。しかしながら、材料を削ることでナノ構造を作成する伝統的な「トップダウン式」加工技術は、技術面及びコスト面からの限界が指摘されており、分子の自己組織化によってナノ構造を作成する「ボトムアップ式」構造制御が注目を集めています。「ボトムアップ式」構造制御では、(i)目的となる原子・分子を厳密に認識し、(ii)認識した原子・分子を決まった規則の下で組み上げる（組織化）という2段階の過程があります（図1）。ペプチドをはじめとする生体分子の応用は、最も期待される「ボトムアップ式」無機ナノ材料作成法の一つです。

これまで、様々な無機物に対する BMPep が報告されていますが、BMPep を用いたナノ構造制御に関する報告は僅かです。その僅かな報告例も、特定の無機物のみを目的にするものであり、汎用的な手法はありませんでした。これは、BMPep は(i)の高い認識能力を有する一方、(ii)の組織化過程の制御能力を持たない、すなわち1つのペプチドに(i)(ii)両方の機能を持たせることが困難であったためです。

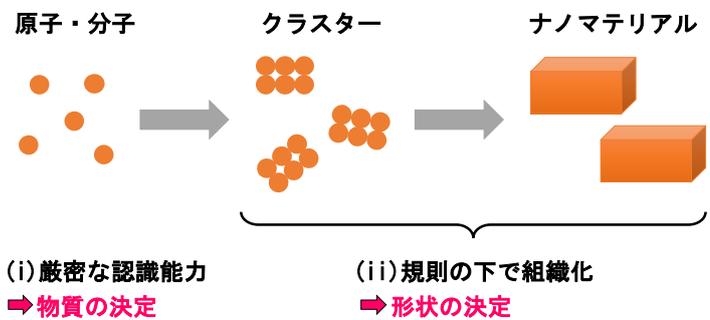


図1. ボトムアップ式ナノ構造制御

### (研究手法)

北海道大学大学院理学研究院の坂口和靖教授らのグループは、機能の異なる2つのペプチドを融合することで、新しい無機ナノ構造制御法を開発しました。無機物に対する特異的認識能力を有する BMPep と、自己組織化能力を有する四量体形成ペプチドを組み合わせることで、(i)(ii)両方の機能を持つ融合ペプチドを作成し、ペプチドによる銀ナノ結晶合成を触媒的に行うことに成功しました（図2）。

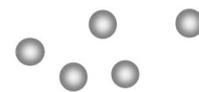
### (研究成果)

まず、自己組織化により安定な四量体を形成する癌抑制タンパク質 p53 の四量体形成ドメインペプチドと、銀に対する BMPep による融合ペプチドを合成しました。また、四量体形成ドメインペプチドの一部のアミノ酸を置換することによって、単量体<sup>2)</sup>と二量体<sup>2)</sup>の融合ペプチドも合成しました。興味深いことに、単量体化 BMPep は銀に対する特異的な結合能力を有しますが、四量体化 BMPep は銀ナ

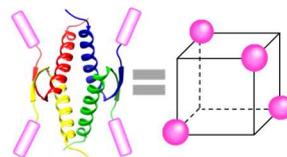
#### A. BMPep 単独



➢ 銀そのものを認識 (機能(i))

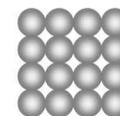


#### B. 四量体化 BMPep



➢ 複数のペプチドが協調的に機能

➢ 銀の集合体を認識 (機能(ii))



立方体の頂点にBMPepが配置

図2. 2種のペプチド融合によるナノ構造制御法

(A) BMPep のみ, (B) 四量体化 BMPep

ノ粒子の形状によって異なる結合能力を示しました。これは、多量体の形成によって BMPep が、銀原子のみならず、銀原子の集合体、すなわち結晶面に対する特異的結合能力を新たに獲得したことを意味します。多量体化 BMPep は、この結晶面に対する認識能力によって、銀の組織化を制御していると考えられます。BMPep の多量体化による結晶面に対する認識能力の獲得は、本研究がはじめての報告例となります。

さらに、四量体化 BMPep は結晶性の六角形状銀ナノプレート形成を触媒的に行うことが観察されました（図3）。四量体化 BMPep は高頻度に銀ナノプレートを形成し、BMPep の多量体化がナノ構造を制御することを示しました。さらに、四量体化 BMPep は結晶形成によって消費されず、触媒的にナノ構造制御を行っていることを示しました。これらの結果から、新たに結晶面に対する結合能力を獲得した四量体化 BMPep は、特定の結晶面への強い結合によって結晶成長過程を制御していると考えられます（図4）。

以上より、BMPep と多量体形成ペプチドの融合というシンプルな手法によって、BMPep の結合特異性の向上とナノ構造制御能力の増強を行えることを報告しました。

#### （今後への期待）

ナノマテリアルの発展は非常に目覚ましく、工業的・医療的に有用な機能が日々報告されています。それに伴い、精密なナノ構造制御法の開発は急務であり、本手法は今後のナノマテリアルの発展に高く寄与することが期待されます。BMPep と多量体形成ペプチドの融合という本手法は、使用するペプチドの組み合わせを変化させることによって、構造制御を行う無機物の種類及びその構造を選択できると考えられます。現在までに、BMPep 及び多量体形成ペプチドには多種多様な報告があります。さらに、任意の無機物に対して BMPep を同定する方法が既に確立されており、人工的な多量体形成ペプチドのデザインについても盛んに研究が行われています。以上のことから、BMPep と多量体形成ペプチドの組み合わせは無数に存在しており、本手法により、多種多様な無機ナノマテリアルの作成への展開が期待されます。

このように、BMPep と多量体形成ペプチドを組み合わせた本手法は、汎用性の高いナノ構造制御法として今後の高機能性材料の開発に大きく寄与すると考えられます。

なお、本研究は、科学研究費助成事業 基盤研究 (B) (No. 24310152) の一環として行われました。また、日本学術振興会の特別研究員制度 (No. 24-2657) により支援されています。

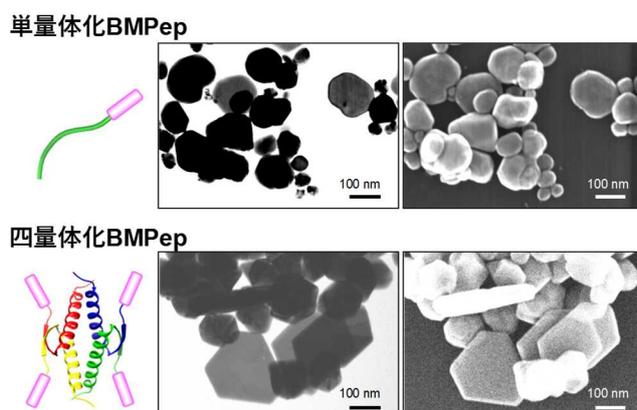
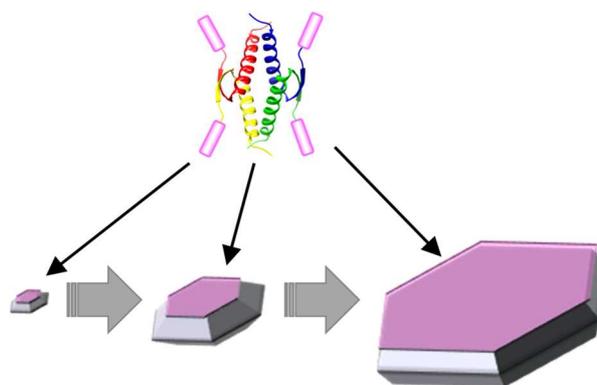


図3. 四量体化バイオミネラリゼーションペプチドによる結晶性銀ナノプレート形成



結晶面特異的な結合による結晶成長の制御

図4. 四量体化バイオミネラリゼーションペプチドによる銀ナノ構造制御モデル

## お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院化学部門 教授 坂口 和靖 (さかぐち かずやす)  
TEL : 011-706-2698 FAX : 011-706-4683 E-mail : kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp  
ホームページ : <http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~biochem/>

### [用語解説]

#### 1) 癌抑制タンパク質 p53

p53 は、放射線や発癌物質による DNA の損傷等に対して、DNA 修復や細胞増殖の停止などの癌化防止機能を調節する、極めて重要なタンパク質のこと。p53 は四量体を形成することによってその機能を発揮し、四量体形成ドメインと呼ばれる部分を介して特徴的な四量体構造を形成する。

#### 2) 多量体 (四量体, 二量体, 単量体)

複数のユニットから構成される集合体のこと。本論文ではペプチド分子が1つのユニットである。4つのユニットからなる集合体を四量体と呼ぶ。同様に、2つのユニットからは二量体、1つのユニットからは単量体が作られる。

#### 3) ペプチド

複数のアミノ酸がつながってできた分子のこと。つながったアミノ酸の種類・順番によって様々な機能を発揮する。

#### 4) バイオミネラリゼーションペプチド (BMPep)

特定の無機物に強く結合するペプチド。これらのペプチドは、目的無機物に結合するのみならず、粒子化・結晶化 (ミネラリゼーション) を促進することから、バイオミネラリゼーションペプチドと呼ばれている。このペプチドは、僅かなアミノ酸配列の変更によって目的無機物を変更でき、さらに常温・常圧という温和な条件でのミネラリゼーションが可能であることから、新しい材料形成法として注目されている。

#### 5) 自己組織化

分子同士が自発的に集まって、一定の構造体を構築する性質を指す。最もなじみ深い例では、「水と油」が混ざり合わない性質が挙げられる。これは、油の分子が水と混じり合った際、油同士で集合する性質があることに起因する。私たちの体を構成する「細胞」もまた、代表的な自己組織化の例である。細胞内には無数の分子が存在するが、それらが自発的に集まった状態が高度に制御されることで、各分子単独では成し得ない高い機能を有する細胞を構築している。自己組織化を制御することは、材料科学的に極めて重要である。

#### 6) 四量体形成ドメイン

p53 タンパク質の四量体を形成する部分のこと。1つのタンパク質は、いくつかの機能を持った部分に分けることができ、その部分のことをドメインと呼ぶ。

7) ナノプレート

ナノサイズ（1メートルの10億分の1）の薄い板状の構造体のこと。

8) 触媒的

触媒とは、化学反応の際に、それ自身は変化せず、他の物質の反応速度に影響する働きをする物質のこと。本研究における四量体化 BMPep は、自身は変化しない（消費されない）まま銀ナノプレートの形成に寄与した点が、触媒的であるといえる。