

平成 30 年 7 月 30 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201880102

氏名 鈴木星斗

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

- 1.派遣先：都市名 アトランタ (国名 アメリカ合衆国)
- 2.研究課題名 (和文)：ペプチドの特異結合を組み込んだ水性高分子二相系によるタンパク質の分離と高感度検出
- 3.派遣期間：平成 30 年 4 月 14 日 ～ 平成 30 年 7 月 23 日 (101 日間)
- 4.受入機関名・部局名：ジョージア工科大学 バイオメディカル工学科 Takayama 研究室
- 5.派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

これまでに所属研究室において、低温では水に溶解し、高温では不溶化することが知られる代表的な温度応答性高分子であるポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAM) に対して特異的に結合するペプチドを遺伝子工学的に構築されたライブラリーから同定した。さらにモデルタンパク質であるヒト血清アルブミンにペプチドを修飾することで、加熱操作による PNIPAM の水への不溶化を利用して、ペプチドで修飾したタンパク質を高効率に PNIPAM と共沈殿させた分離に成功している。しかしながら、タンパク質を PNIPAM と共沈殿させることは疎水環境への濃縮によりタンパク質の変性を引き起こす可能性がある。一方で派遣先の研究室では、異なる二種類の高分子水溶液が互いに相溶せず、二相に分離する現象である水性二相系 (ATPS) を用い、生体親和的な環境下で生体分子の検出や細胞のマイクロパターンングを実現している。そこで、本研究では PNIPAM の ATPS 中における分配を利用し、ペプチドで修飾したタンパク質を高効率に分離することを目的とした。

モデルタンパク質である緑色蛍光タンパク質 (GFP) の *N*末端に PNIPAM 結合性ペプチドを遺伝子工学的に融合した。ポリエチレングリコール (PEG) とデキストラン (Dex) からなる ATPS 中では PNIPAM は PEG 相へと分配された。ペプチド融合 GFP は ATPS 中で Dex 相へと分配されたが、PNIPAM とともに混合した場合、相転移温度以上ではペプチド融合 GFP は PEG 相へと分配された。一方で、ペプチド非融合の GFP の場合は PNIPAM 存在下であっても Dex 相へと分配され、ペプチドと PNIPAM 間の結合によって、本来は Dex 相に分配されるタンパク質を PNIPAM と複合体を形成させることで、PEG 相に分配することに成功した。さらに相転移温度以下まで冷却した結果、GFP/PNIPAM の複合体が崩壊し、GFP が Dex 相へと移動し、温度により分配を制御できた。

6.研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本研究成果は2018年12月に開催されるIPC2018に発表予定である(タイトル:Aqueous Two Phase System-Assisted Purification of Proteins Fused with a Thermoresponsive Polymer-Binding Peptide, 発表者:Seigo Suzuki, Taisuke Kojima, Toshiki Sawada, Shuichi Takayama, Takeshi Serizawa)。また本成果は論文発表する予定であり、現在準備を進めている。

今後は、PNIPAM 結合性ペプチドをタンデム(多量化)させることで、PNIPAM とペプチド間の結合を向上させることで、より高効率の分離を実現させる。さらに複数のタンパク質の溶液中からペプチドを融合した目的のタンパク質だけを選択的に分離することも検討する。この場合、PEG 相に分配されやすいタンパク質と Dex 相に分配されやすいタンパク質の2種類を検討し、いずれのタンパク質に対しても本系が適用可能かを明らかにする。また、PNIPAM に蛍光分子を導入することで、PNIPAM の相転移温度前後での ATPS 中における分配も詳細に評価する予定である。

さらに、研究の途中で、PNIPAM とペプチド間の結合が PEG 中と Dex 中において異なるような興味深い挙動が観察された。そこでこうした高濃度の高分子溶液中、いわゆる分子クラウディング環境下における生体分子と人工物の結合を定量的に評価することで、結合の制御や結合の差を利用した ATPS における新たな研究へと展開できると考えている。

7.本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

所属する研究室において、海外で共同研究を行うということが初めてだったため、すべて手探りの状態からはじまった。派遣先での実験に使用するタンパク質や高分子、装置を海外にどのように送るのかという初歩的なこともわからず、他の研究室の人や業者の方々に協力してもらい、なんとか渡航開始前にすべてを送ることができた。それ以外にもビザの準備(申請書や英語力の面接など)や滞在先の選定などに非常に時間がかかった。海外で1週間以上過ごしたことがなかったため、渡航前は英語についていけるのかということや危険な目に会わないかなどと不安で仕方なかった。しかしながら、現地の人たちや研究室のメンバーはとても親切で、実験や生活のことをサポートしてくれただけでなく、アトランタ周辺のレストランやメジャーリーグの観戦などにも連れて行ってもらった。

アメリカで研究を進めていくと自分がいかに狭い世界の中で生きていたということをつくづく実感した。研究のスタイルや研究室内の教育方法も全く異なり、はじめは衝撃を受けた。大学の建物もきれいで大きく、一人あたりのスペースも広く、また実験設備や試薬などの環境もとても充実しており、研究に没頭することができた。派遣先では研究のことは自分で考えるというスタイルだったので、得られた結果から次にどうするかを自分で考えプランニングし、実行した。しかしながら完全に放置で自己責任というわけではなく、先生が学生の部屋に来て雑談がてらに研究の進み具合や今後の進め方について話すというスタイルであった。敬語がない分先生との距離も近いように感じられ、さらに先生も学生の意見や考え方を尊重しながら指導してくれるため、研究室のメンバーは皆自分の研究を楽しそうに、また誇りをもってやっているという印象を受けた。

渡航前の準備やアメリカでの生活のすべてが非常に刺激的であり、とても良い経験になった。アメリカで学んだことは今後自分の将来にとって価値のあるものであり、この経験を今後の研究に活かしたい。