人工ペプチドによる特異的な無機材料表面認識

Specific Recognition of the Surfaces of Inorganic Materials by Peptide Aptamers

芝 清隆

Kiyotaka Shiba

Peptide aptamers are artificially created short peptide sequences that have specific recognition abilities. The technique to create peptide aptamers has been developed in biology field and many peptides that bind to various biomolecules including enzymes, receptors etc. have been isolated since 1990. Recently, this methodology has been applied to create artificial peptides that specifically bind to the surfaces of inorganic materials. Here I introduce our studies on peptide aptamers against titanium and carbon nanohorns, and discuss on the “specificity” that is required for bionanotechnology.

Keywords: evolutionary bioengineering, in vitro evolution, bio-nanotechnology, artificial proteins, biomineralization

1. はじめに

特異的な認識能力をもった生体分子でまず思いつくのが「抗体分子」であろう。インフルエンザの流行期に、高熱を出して病院を訪れると、綿棒で鼻腔内粘膜表皮を採取され、何やら小さいプレートに塗り付け、待つこと数分、インフルエンザかどうかを診断される。この検査プレートに固相化されているのは抗体分子である。インフルエンザウイルスの核タンパク質に特異的に結合する抗体分子で、通常はA型とB型のウイルスを区別できるような2種の抗体が用いられている。われわれもインフルエンザウイルスに感染すると、体の中ではインフルエンザウイルスに対する特異的な抗体が作られている。いわゆる免疫反応である。検査キットを作るには多量の抗体が必要となるので、人為的に抗体を調製しないといけない。これはマウス体内にウイルス（あるいはタンパク質）を注入することから免疫を誘導し、ウイルスに対する抗体を産生する細胞をうまく見つけ出し、それを細胞レベルで増殖させることから可能となる。

人為的に特定の特異性をもった抗体を作製する、といっても、要はマウスのもつ免疫機構まかせである。免疫機構は魔法のように、その動物個体が初めて遭遇する外来分子を特異的に認識する抗体分子を体の中で作り出してくれる。外来分子は何もタンパク質などの生体高分子に限る必要はない。化学化合物に対する特異的抗体も広く知られている。ならば、工学分野で使われるいろいろな無機材料を特異的に認識する抗体分子は同じように人為的に作りだすことができるのであろうか？ここでは、特異的な認識能力をもつ生体高分子を人為的に作製する技術を、工学分野で利用しようとする最近のバイオナノテクノロジーの研究を紹介し、

生物学と材料科学の接点における「特異的認識」について考えてみたい。

2. 人為的な特異的結合分子の作製

2.1 「選択」することから創り出す

免疫システムが未遭遇の外来分子に対して、それを特異的に認識する抗体分子を生み出す機構は簡単には次のようなものである。抗体分子はタンパク質なので、基本的には20種のアミノ酸がいろいろな順番でつながった直鎖状の分子である。その並び方でいろいろな特異性を生み出していることになる。免疫システムは、外来分子と遭遇して、それからそれに合わせて新しいアミノ酸の並びを作り出すの

Figure 1. Selection from molecular diversity. In evolutionary molecular engineering experiments, artificial molecules having desired functions are selected from libraries that are prepared from combinatorial polymerization of DNA or amino acid blocks.

ではなく、実はいろいろなアミノ酸の並びをもった抗体分子をあらかじめ体の中にたくさん準備している。そして、その中から遭遇した外来分子をうまく認識できる抗体のみを育てる。あたかも進入した外来分子にあわせて抗体分子が変化したかのように見えるが、基本は「多様性集団」から適したものが「選択」されるといった進化にも通じる戦略を利用している。

2.2 ペプチド提示ファージ・システム

免疫システムをうまく利用すると、いろいろな材料に対して特異的に結合する抗体分子がつくれそうである。実際、例えばフラレンを特異的に認識する抗体を取得したと主張する論文なども存在する¹。しかしながら、現在のところ、この分野でもっぱら使われているのは、抗体免疫システムではなく「ペプチド提示ファージ・システム」である。これは、抗体システムをもっと単純化したようなもので、ファージと呼ばれる大腸菌に感染するウイルスの表面にいろいろな配列のペプチドを提示した集団から出発し、その中から標的分子に結合するファージクローンを選び出す²。「多様性集団」からの「選択」を基本戦略としていることには変わらない。Figure 2 にはペプチドを提示したファージの模式図を示している。長さがおおよそ 1 μm のいくつかのタンパク質とゲノム DNA からなる超分子集合体である。マウスや動物細胞を必要としないシンプルなシステムであることが、ペプチド提示ファージ・システムが広まった理由の 1 つかもしれない。ちなみに生物学分野では「ペプチド」「ポリペプチド」「タンパク質」といった言葉が使われるが、いずれもアミノ酸の重合体で、簡単に言ってしまうと短い重合体がペプチドで、長いものがポリペプチド、タンパク質である。

Figure 2. Schematic representation of a peptide-displayed phage. A few copy of peptide (having the same sequence) is displayed on a one end of a filamentous phage body. The phage body is composed of several species of proteins and a phage genome DNA.

2.3 材料認識ペプチド・アプタマー

ペプチド提示ファージ・システムなどで取得された特異的結合能力をもつペプチドは「ペプチド・アプタマー」と呼ばれている。従来は酵素や受容体などの生体高分子に対するペプチド・アプタマーの取得が中心であったが、2000年に発表された半導体に対するペプチド・アプタマーの取得報告³を境に、その対象範囲が無機材料へと大きく広がった。最近までに報告されている無機材料に対するペプチド・アプタマーは、文献⁴にまとめられている。

われわれの研究室でも、「チタン⁵」「カーボンナノホーン

(a) Ti-binding peptide (TBP-1)

Arg-Lys-Leu-Pro-Asp-Ala-Pro-Gly-Met-His-Thr-Trp

(b) Carbon nanohorns binding peptide (NHBP-1)

Asp-Tyr-Phe-Ser-Ser-Pro-Tyr-Tyr-Glu-Gln-Leu-Phe

Figure 3. Sequences of artificial peptides that recognize the surfaces of titanium (a) and carbon nanohorns (b). These peptides were selected using a peptide phage display system.

(CNH)⁶」に結合するペプチド・アプタマー（それぞれ、TBP-1, NHBP-1 と命名）を取得している。これら人工ペプチドの配列を Figure 3 に示してある。これらはいずれも、12 残基長からなるランダムなペプチド配列の中から選ばれたものである。

3. ペプチド・アプタマーの工学分野での利用

3.1 抗体に比べると随分と小さなペプチド・アプタマー

Figure 3 で示すペプチドは分子量にして 1500 前後である。これを大きな分子と感じるか、小さな分子と感じるかは、研究分野によって異なるであろうが、生体高分子を研究する者にとっては随分と小さな分子である。タンパク質はたいていが 200 残基以上のアミノ酸が重合したものである。大きいものでは何千といった残基長をもつ。ちなみに抗体分子の場合、4つのポリペプチドが集合したもので、全体の分子量はおおよそ十数万といった比較的大きなタンパク質の部類に属する。すなわち、ペプチド・アプタマーの 100 倍の大きさをもつ。はたしてこのような小さなペプチド分子が、抗体分子と同じように標的分子を特異的に認識し、強く結合できるのか興味深い問題である。以下にわれわれの研究成果を中心に紹介してみたい。

3.2 ペプチド・アプタマーの無機材料結合能力

ファージとは細菌に感染するウイルスのことで、いろいろな種類があるが、ペプチド提示ファージ・システムでは、Figure 2 で示したような繊維状ファージと呼ばれる仲間がよく使われる。Figure 2 に示している分子の大きさの関係は実際の分子の大きさを反映していない。ファージ本体は長さがおおよそ 1 μm あるのに対して、直径はわずか 6–7 nm であるので、実際のファージは模式図よりもはるかに大きなアスペクト比をもつ。さらに、提示されている 12 残基のペプチドは伸ばした状態でも長さは 2 nm ぐらいである。このような小さなペプチドが、巨大なファージの片端に数コピー提示されており、ここで、ファージを標的分子につなぎとめている。イメージとしては 5 メートル長の棒高跳びのボールの先に長さ 1 センチのセロテープが数枚飛び出しており、このようなボールが海中において、テープ部分で

岩に結合し、大きな波がきてもびくとしめない、といった感じである。感覚的にはペプチド・アプタマーは随分と強い結合をもつようであるが、定量的にはどのようなのであろうか？

生体高分子の結合は基本的には水素結合、電気的相互作用、ファン・デル・ワールス力、疎水結合が合わさった「非共有結合」である。また、生体高分子の結合は水の存在を前提とする。したがって、生体高分子間の結合の強さの指標として、解離平衡定数がしばしば用いられる。抗体と抗原との解離平衡定数は、普通 nM のオーダーで、中には pM のオーダーの強い結合を示す抗体抗原の組み合わせも存在する。一般的に生体高分子はその目的に応じて、 μM ～ pM の範囲の解離平衡定数でそれぞれ分子間相互作用しているが、その中でも抗体抗原の結合は最も強い部類の 1 つである。

ペプチド提示ファージは（結合するものとして選択してきたわけだから）標的材料に結合することは明らかなので、この複合体の示す解離平衡定数を求めたいところであるが、前述したようにファージ本体が高いアスペクト比をもつ等の理由も含め、なかなか適当な評価系が存在しない。そこで、提示したペプチド配列、TBP-1 と同じ配列をもつペプチドを化学合成し、この合成ペプチドを用いてチタン粒子に対する解離平衡定数を求めてみた⁷。得られた値は、 $10 \mu\text{M}$ のオーダーのものであり、非常に弱い結合能であった。

実は、ペプチド提示ファージで取得されたペプチドが、ファージ本体から切り離された場合に、結合能力が極端に悪くなる（あるいは失う）のはしばしば耳にする話である（このような場合そもそも論文にはならない）。その理由はいくつか考えられる。ファージ提示状態では、上述のように数コピーのペプチドが 1 つのファージに結合しているわけなので、多価提示状態となっている。単離されたペプチドより強い結合能力をもつことが容易に想像できる。他にも、ファージ本体の提示されたペプチド近傍のタンパク質のある領域が、何らかの形で結合に寄与している可能性が考えられる。もっとも嫌な可能性は、得られたペプチドがファージに提示された状態でしか、特異的な結合能力を示さない場合である。しかしながら、このような可能性は、得られたペプチドを他の分子に移植し、移植された分子がペプチドの持つ特異的な結合能力を獲得することを確認することで排除できる。

われわれは、後述する理由を含めて、ペプチド・アプタマーを移植する分子としてフェリチンを選んだ。フェリチンは直径が 12 nm のナノ球状タンパク質である。ヒトから、植物、細菌にいたるまでフェリチン（および同等タンパク質）は広く分布し、ヒトでは、血中での鉄貯蔵タンパク質として機能していると考えられている。L 鎖、H 鎖の 2 種のポリペプチドから構成されるヘテロ 24 量体だが、どちらか片方のポリペプチドを用いた大腸菌組換え系でも、天然

Figure 4. Schematic drawing of ferritin molecule. Ferritin is composed of 24 subunits (L-chain and H-chain). The N-terminal of the units are shown by red dots.

フェリチンと同じようなナノ粒子を形成させることができる。

フェリチンの立体構造を眺めると、うまい具合にその N 末部分がナノ粒子の表面に露出している。そこで、組換えフェリチンのサブユニット遺伝子の N 末端部分に相当する部分に、TBP-1 をコードする DNA 配列を挿入し、N 末部分、すなわちフェリチンの粒子表面に TBP-1 を提示するような改変フェリチン分子を作製してみた。また、この時点で、12 残基の TBP-1 のうち、チタンへの結合に必須な配列は、前半の 6 残基（これを minTBP-1 と命名）であることがわかっていたので⁵、実際にはフェリチンサブユニットに挿入したのは、6 残基配列、RKLPDA であった。

得られた改変フェリチン（minT1-LF）は予想どおり、TBP-1 が持つチタンへの特異的な結合能力を示した⁹。そこで、このチタン結合能力を賦与された改変フェリチンのチタン表面への解離平衡定数を求めた。今度は、 3.8 nM といった、抗体・抗原の結合に匹敵する強い結合能力が観察された⁹。わずか 6 残基のペプチドを移植するだけで、フェリチン粒子にチタン表面への十分に強い結合能力を賦与することができたわけだ。われわれは同様に、NHBP-1 を提示する改変フェリチンも作製し、こちらからもカーボンナノホーン表面に結合能力をもつ改変フェリチンの作製に成功している⁹。

3.3 特異的な結合とは何を意味するか？

ここまでは深く説明することなく「特異的な結合」という言葉を使っていた。ここでは、「特異的な結合」の意味を少し考えてみたい。

2000 年に半導体に結合するペプチドがペプチド提示ファージ・システムで単離・報告³された時、それまで生体高分子を標的として同種の実験を進めていた生物学者がまず思ったのが、「これって本当に特異的な結合ペプチドなの？」であった。ペプチド提示ファージ実験を進める上での注意点の 1 つが、選択過程で、ピペットチップや反応チューブなどの材料表面に結合するファージを目的のファージとして勘違いするな、である。つまり、得られたファージが、本当に狙った通りに標的分子に結合している

のか、あるいは、実験に用いるいろいろな機器の表面に結合しているものを特異的結合ペプチドとしていないか、十分なコントロール実験をおくように注意しなければならない。実際、反応チューブに結合しやすいペプチド配列等が論文として発表されており、実験者に注意を促している⁹。これら無機材料結合ペプチドは「非特異的結合ペプチド」として避けられていたのである。しかし、半導体結合ペプチドは、この非特異的結合ペプチドを積極的に選択したようなものである。ターゲットが生体高分子であるから特異的結合ペプチドであり、ターゲットが無機材料だから非特異的結合ペプチド、とはならないのである。どちらも、積極的に結合物を選択しているわけだから、等しく特異的結合ペプチドを創製する実験なのである。

しかしながら、生物分野の研究者が半導体結合ペプチドの報告論文の結果にすっかりしたものを感じなかった理由のもう1つが、得られた配列群に関係している。ペプチド・提示ファージ実験の基本的な流れは Figure 1 にあるように多様性集団の中から結合能力をもつクローンを選択するわけだが、通常、最終的に選択されるクローンは複数種となる。そして、しばしば、その複数種の配列を比較すると、共通した配列構造を見いだすことができる（例えば、4つの異なる12残基の配列があるが、いずれの配列も共通してRGDKといった4つの連続した配列をどこかに持つ、等）。このような配列の共通性が見いだされた時、実験者は実験がうまくいったかと、ひとまず胸をなでおろすのである。ところが、報告された11種のGaAs(100)結合ペプチドの間には共通配列は存在していなかった³。電子供与性のあるアミノ酸残基が多いことが指摘されているが、当時の生物分野の研究者の感覚からすると、発表をためらう結果である。単に、非特異的結合ペプチドの中の、ある傾向のものだけを選んでいのではないかという穿った見方でもできる。いや、その「ある傾向のものを選ぶ」といったことこそが、特異的結合ペプチドを選択したことになるのだ、ともいえる。

こう考えていくと、そもそも生体高分子の間においても「特異的結合」とは何なのか？ということになってくる。冒頭に述べたように、インフルエンザウイルスを特異的に認識する抗体を取得する場合、マウスにインフルエンザウイルスを接種し、免疫反応を誘導することでおこなう。この場合、マウスの免疫システムは、マウス自身がもついろいろなタンパク質を自己として、接種したインフルエンザウイルスを非自己として特異的に識別する。免疫といった1つのシステムの中で特異性が定義できる。では、A型とB型を区別する抗体の場合はどうであろう？マウスにとっては、A型もB型もどちらも等しく非自己であり、特異的に識別する必要は無い。事実、A型とB型の両方を同じように認識する抗体もマウスの中では作られているはずだ。いろいろ作られた抗体の中で、われわれが検査キットとして

使い勝手がよいものを「特異性が高い良い抗体」と称して使っている。マウスの免疫システムにとっては、この識別は必ずしも必要ないものなのかもしれない。

実は、ペプチド提示ファージ・システムで保証されているのは、ペプチド提示ファージ・システム内での特性である。すなわち、選択実験の過程でペプチドが出会うもろもろの有機材料、無機材料と標的分子間の識別である。すなわち、得られてきたペプチドは、確かに標的分子を、プラスチックチューブや、ブロッキング剤として用いる特定タンパク質から区別できるが、システムに含まれていない未知の標的分子に対して、どのような振る舞いをするのかは、あらかじめ分からないのである。

3.4 TBP-1の特異性は？

前節では特異性についてあれこれと論じてみたが、要は、創製したペプチドを最終的に用いるシステム内で必要十分な特異性があるかどうか？である。無機材料結合ペプチドの多くは、ナノバイオテクノロジーの分野での利用が想定されている。想定されているシステムの中で、必要な特性が出せればそれでOKなのだ。

われわれはチタンに結合するTBP-1を単離した⁵。TBP-1の最終的な応用利用目標は、1つにはバイオマテリアルとしてのチタン表面の機能化に利用するためである。例えば、骨化誘導能力をもったサイトカインなどを、TBP-1を介してチタンインプラントの表面などに固相化し、生体内でのチタンインプラントの骨接合を改善しようとするものだ。この場合、ヒトの生体システムの中で、十分に期待したTBP-1の特異性が発揮できるかどうか問題となる。*in vivo*実験が中心となるので、結論が出るまでには、まだ少し時間を必要とする。

TBP-1のもう1つの出口が、バイオナノテクノロジー分野での利用である。すなわち、ボトムアップなナノデバイス構築に、TBP-1のもつ特異的認識能を利用することである。この場合、デバイス作製過程で用いられる各種無機材料の間を識別する能力があるかどうか鍵となる。そこで、われわれは、チタンを含む10種の無機材料（主に金属）に関して、TBP-1の結合能力を評価してみた。その結果、TBP-1は、チタン、銀、シリコンの表面には結合するが、金、プラチナ、銅、鉄、クロム、亜鉛、スズには結合しなかった⁷。デバイス作製を考えると十分に使える特異性である。デバイス作製で頻用されるシリコン表面に結合するのが少々問題とも思えたが、その後、結合時の条件を工夫することなどにより、チタンと酸化シリコン基板との識別も可能であることも分かっている¹⁰。Figure 5には、TBP-1のもつ特異的結合能力を用いたナノデバイス作製につながる応用実験の1つを示している。ここでは、前述のminTBP-1提示フェリチン(minT1-LF)が用いられている。酸化チタン基板上にチタン薄膜をナノパターン化したものを作製し、

Figure 5. Specific positioning of minTBP-1 displayed ferritin on titanium regions patterned on SiO_2 substrate.

このパターン基板に minT1-LF 溶液を流し、軽く洗浄するだけで、図のように特異的なフェリチン配置を実現している¹⁰。

3.5 NHBP-1 の特異性は？

TBP-1 に比べるとカーボンナノホーンに結合する NHBP-1 の特異性に関しては、研究があまり進んでいない。その理由は炭素化合物、金属類と異なり、薄膜作製などが容易でないことにある。

NHBP-1 は、カーボンナノ化合物の中でも、特に「カーボンナノホーン¹¹」を意識して選択してきた。カーボンナノホーンは、広くはカーボンナノチューブの仲間であるが、その合成には触媒金属を使用しないことが、カーボンナノ材料の医療方面での応用¹²で大きな利点となる。NHBP-1 の想定利用システムも生体であるために、十分な特異性があるかどうかは *in vivo* の評価実験をまたなければならない。現在、少なくとも *in vitro* では、カーボンナノホーン表面の改質に利用できるだけの十分な特異性と結合能力を発揮できることが分かっている。

3.6 ペプチド・アプタマーの多機能性

ペプチド・アプタマーは、「結合活性」を指標に選択されている。ところが、面白いことに、調べてみると結合活性以外にいろいろと面白い活性をあわせ持つことが分かってきた。

1 つはバイオミネラル化活性である。バイオミネラル化とは、われわれの骨や歯、あるいは貝殻などがそうであるように、生物が無機物の結晶（多くはアモルファスなのだが）を水中の温和な条件で形成する現象である⁴。バイオナノテクノロジーでも是非利用したい生体高分子の特性の 1 つなのであるが、天然のバイオミネラル化が対象とするのが、リン酸カルシウムやシリカに限られているという問題もあった。なんとかバイオミネ

ラル化の適応範囲を広げられないかと試行錯誤が続く中で、無機材料結合ペプチドがもつミネラル化能力に注目が集まっている。

そもそも、無機物表面への生体高分子の結合と、バイオミネラル化が表裏一体の現象ではないかという考えは、バイオミネラル化研究初期の段階から提案されていた¹⁴。したがって、ペプチド・アプタマーの研究者にも、ペプチド・アプタマーが水中での無機物結晶化に何らかの影響を与えるのではないかという期待が早い段階であったと言えよう。前述の半導体結合ペプチドを取得したグループも、アプタマーのもつミネラル化活性の研究を精力的に進めている¹⁵。

われわれも TBP-1 が結合標的である、チタン、銀、シリコンのミネラル化に影響をもつかを調べた。その結果、TBP-1 は、シリカ、銀、チタニアのミネラル化を促進する活性をもつことが分かった^{7,16}。さらに、この TBP-1 のもつ「結合活性」と「ミネラル化活性」を交互に利用してナノ多層薄膜を形成する、BioLBL 法を考案している¹⁷。BioLBL 法は、間質層にシリカやチタニアの薄膜を用いるために、層間拡散が抑えられるといった、従来の Layer-by-Layer 法に無い長所をもっている。トップダウンのリソグラフィ法と組み合わせることにより、水中での 3 次元ナノ構造体の形成に成功している¹⁶。

NHBP-1 に関しても結合活性以外の興味深い機能が明らかになってきている。NHBP-1 の配列はかなり疎水的な残基を多く含むが、これと関連してか、NHBP-1 は高い自己集合能力をもつ。合成ペプチドそのものが塩の存在下で繊維状のマクロ構造を形成するのに加えて、NHBP-1 を他の可溶性のタンパク質に賦与することで、そのタンパク質に自己集合能力を賦与することができる¹⁸。また、前述の minTBP-1 提示フェリチンと同じように、NHBP-1 提示フェリチン分子を作製すると、フェリチンが二次元の最密結晶アレイを形成することが明らかになっている。ペプチド・アプタマーのあわせ持つ、このような自己集合能力も、工学的に利用価値のある機能のようである。

4. ペプチド・アプタマーの基礎科学としての面白さ

前章ではペプチド・アプタマーの応用側面に焦点を当てて紹介したが、基礎科学としてのペプチド・アプタマー研究も最後に紹介しておきたい。

まず、何といってもどのような分子機構でペプチドが無機材料の表面を認識しているかが一番の興味であろう。生体高分子に結合するペプチド・アプタマーならば両者の共結晶構造解析を進めればかなりのことがわかるのであるが、標的が無機材料の場合には結晶化は望めない。ペプチド単体の NMR 構造解析も 1 つの可能性で、NHBP-1 に関しては、NMR のデータが得られたものの²⁰、これだけでは結合の機構解明にはいたらない。ペプチド・アプタマーの結合機構

Figure 6. A model for the recognition of the surface of Ti by minTBP-1 peptide.

の解明には、ペプチドの変異体（各位置のアミノ酸が他のアミノ酸に変化したもの）をうまく利用し、複数の解析法を組み合わせることで迫っていくのが現実的な方法なのであろう。われわれは既に、TBP-1の各位置をアラニンに変化させた変異体を作製し、そのチタンへの結合能力の変化の観察から、TBP-1はチタン表面の水酸化膜の電荷パターンを認識して結合しているというモデルを提案している（Figure 6）⁵。さらに、minTBP-1を提示するフェリチン分子、minT1-LFを利用したAFM解析から、このモデルの裏付けとなるデータを得ている²¹。現在、変異体minTBP-1を提示するフェリチン分子とAFMを用いて、さらに深い知見を得る作業を進めている。

TBP-1はチタンの他にも、銀やシリコンの表面に結合する。これまでの材料科学の常識では、チタン、銀、シリコンの表面は特に共通の性質は指摘されていない。無機材料結合ペプチドは、このように、表面科学の分野に新しい切り口を与える道具となる可能性も潜めている。

さらに、ペプチド・アプタマーが与える、バイオミネラリゼーションへのインパクトも指摘しておきたい。バイオミネラリゼーション研究は長い歴史をもつものの、未だにその分子機構がはっきりとしない難しい研究テーマである。ようやく最近バイオミネラリゼーションに関わるタンパク質自体の配列構造、高次構造が明らかにされているような状況である。タンパク質の場合、変異体を作製するにしても、構成するアミノ酸の数が多いために、何らかの工夫が必要である。バイオミネラリゼーション関連タンパク質が共通に持つ、短いペプチド配列（モチーフと呼ぶ）に焦点をあてて実験を進めるのも1つの手法であるが、最初から短いペプチドとしてバイオミネラリゼーション活性をもつペプチド・アプタマーは、比類ない研究材料となる。今後、ペプチド・アプタマーを利用したバイオミネラリゼーション研究が飛躍的に進展するものと期待している。

5. おわりに

無機物に結合するペプチド・アプタマーはバイオナノテクノロジーの強力なツールとなると期待され、2000年以降

大きな進展を遂げた。現在、主だった無機材料に対するペプチド・アプタマーの単離は完了しているといった状況である。次なるこの分野の挑戦は、これらペプチド・アプタマーを用いて、どのように自己組織化的に複雑なナノ構造を形成するシステムを作製するかである。天然の生体高分子が自己組織化的に複雑なナノ構造を形成するからといっても、結合活性で選択した人工進化ペプチドが、そのまま自己組織化的に何らかの構造を形成してくれるというわけにはいかない。実は、そもそも天然タンパク質の自己組織化機構についても、われわれはほとんど何もわかっていないのかもしれない。この方面の研究に関しても、ペプチド・アプタマーが新しい展開を導いてくれるかもしれない。いずれにせよ、応用利用に先走ることなく、地道に結合分子機構やミネラリゼーション機構を解析していくことが、バイオナノテクノロジーが次のステップへと飛躍する近道であろう。

6. 謝辞

ここで紹介した研究のうち、チタン結合ペプチドに関する研究は佐野健一研究員、カーボンナノホーン結合ペプチドに関しては加瀬大介君、松村幸子研究員を中心に進められたものである。また、フェリチンを利用したデバイス開発では、奈良先端科学技術大学院大学の山下一郎博士、カーボンナノホーンでは、名城大学の飯島澄男博士、日本電気（株）の湯田坂雅子博士に多大なご協力をいただいている。ここで改めてこれらの人々に感謝したい。

引用文献

- (1) Chen, B. X.; Wilson, S. R.; Das, M.; Coughlin, D. J.; Erlanger, B. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 10809–10813.
- (2) Scott, J. K.; Smith, G. P. *Science* **1990**, *249*, 386–390.
- (3) Whaley, S. R.; English, D. S.; Hu, E. L.; Barbara, P. F.; Belcher, A. M. *Nature* **2000**, *405*, 665–668.
- (4) 芝 清隆, 佐野健一, バイオミネラリゼーションとそれに倣う新機能材料の創製; 加藤隆史 編; シーエムシー出版: 東京, **2007**; pp 273–287.
- (5) Sano, K.; Shiba, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14234–14235.
- (6) Kase, D.; Kulp, J. L.; Yudasaka, M.; Evans, J. S.; Iijima, S.; Shiba, K. *Langmuir* **2004**, *20*, 8939–8941.
- (7) Sano, K.; Sasaki, H.; Shiba, K. *Langmuir* **2005**, *21*, 3090–3095.
- (8) Sano, K.; Ajima, K.; Iwahori, K.; Yudasaka, M.; Iijima, S.; Yamashita, I.; Shiba, K. *Small* **2005**, *1*, 826–832.
- (9) Menendez, A.; Scott, J. K. *Anal. Biochem.* **2005**, *336*, 145–157.
- (10) Yamashita, I.; Kirimura, H.; Okuda, M.; Nishio, K.; Sano, K.; Shiba, K.; Hayashi, T.; Hara, M.; Mishima, Y. *Small* **2006**, *2*, 1148–1152.
- (11) Iijima, S.; Yudasaka, M.; Yamada, R.; Bandow, S.; Suenaga, K.; Kokai, F.; Takahashi, K. *Chem. Phys. Lett.* **1999**, *309*, 165–170.
- (12) Shiba, K. In *Nanomaterials for Cancer Diagnosis*; Kumar, C. S. S. R., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2007; pp 285–303.

- (13) Matsumura, S.; Ajima, K.; Yudasaka, M.; Iijima, S.; Shiba, K. *Mol. Pharm.* **2007**, *4*, 723–729.
- (14) Weiner, S.; Hood, L. *Science* **1975**, *190*, 987–989.
- (15) Lee, S. W.; Mao, C.; Flynn, C. E.; Belcher, A. M. *Science* **2002**, *296*, 892–895.
- (16) Sano, K.; Yoshii, S.; Yamashita, I.; Shiba, K. *Nano Lett.* **2007**, *7*, 3200–3202.
- (17) Sano, K.; Sasaki, H.; Shiba, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1717–1722.
- (18) Sano, K.; Sasaki, H.; Shiba, K. *Protein Eng. Des. Sel.* **2007**, *20*, 109–116.
- (19) Matsui, T.; Matsukawa, N.; Iwahori, K.; Sano, K.; Shiba, K.; Yamashita, I. *Langmuir* **2007**, *23*, 1615–1618.
- (20) Kulp III, J. L.; Shiba, K.; Evans, J. S. *Langmuir* **2005**, *21*, 11907–11914.
- (21) Hayashi, T.; Sano, K.; Shiba, K.; Kumashiro, Y.; Iwahori, K.; Yamashita, I.; Hara, M. *Nano Lett.* **2006**, *6*, 515–519.
- (22) Shiba, K.; Minamisawa, T. *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 2659–2664.

(受理日 2007 年 10 月 16 日)

芝 清隆 (しば きよたか)

所属：財団法人癌研究会 癌研究所 蛋白創製研究部

専門分野：分子生物学

連絡先：〒 135-8550 東京都江東区有明 3-10-6

電子メール：kshiba@jfc.or.jp

URL：http://cell.jfc.or.jp