

極限環境ウイルス由来タンパク質を 用いたナノ粒子材料

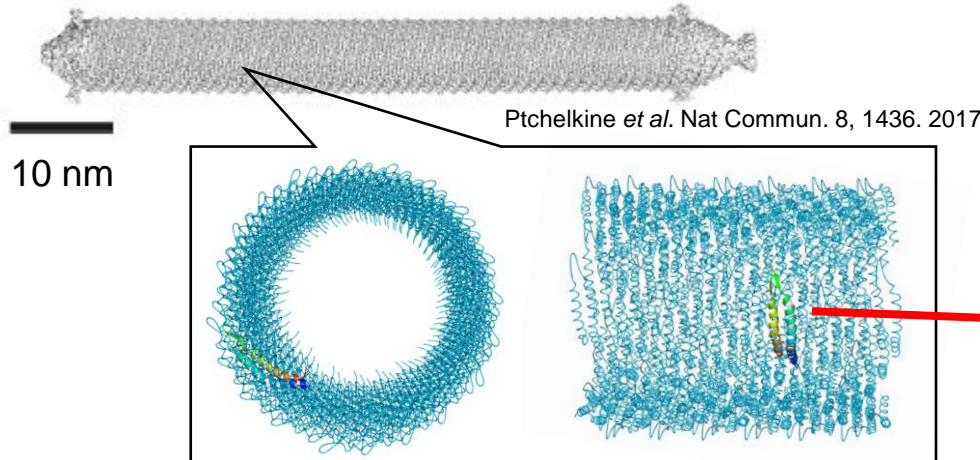
福井大学 学術研究院
工学系部門 生物応用化学講座
准教授 里村 武範

2022年9月6日

開発した極限環境ウイルス由来タンパク質からなるナノ粒子①

APBV1

(*Aeropyrum pernix bacilliform virus 1*)



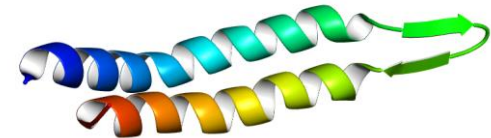
APBV1ウイルス粒子構成タンパク質

ORF6-81 ORF7-201

ORF8-93 ORF9-99

主要粒子構成タンパク質

ORF6-81



日本蛋白質構造データバンク (PDBj) 5OXE

宿主:*Aeropyrum pernix*

好気性超好熱性アーキア
(最適生育温度: 90-95°C)

特徴: 耐熱性・有機溶媒耐性

開発した極限環境ウイルス由来タンパク質からなるナノ粒子②

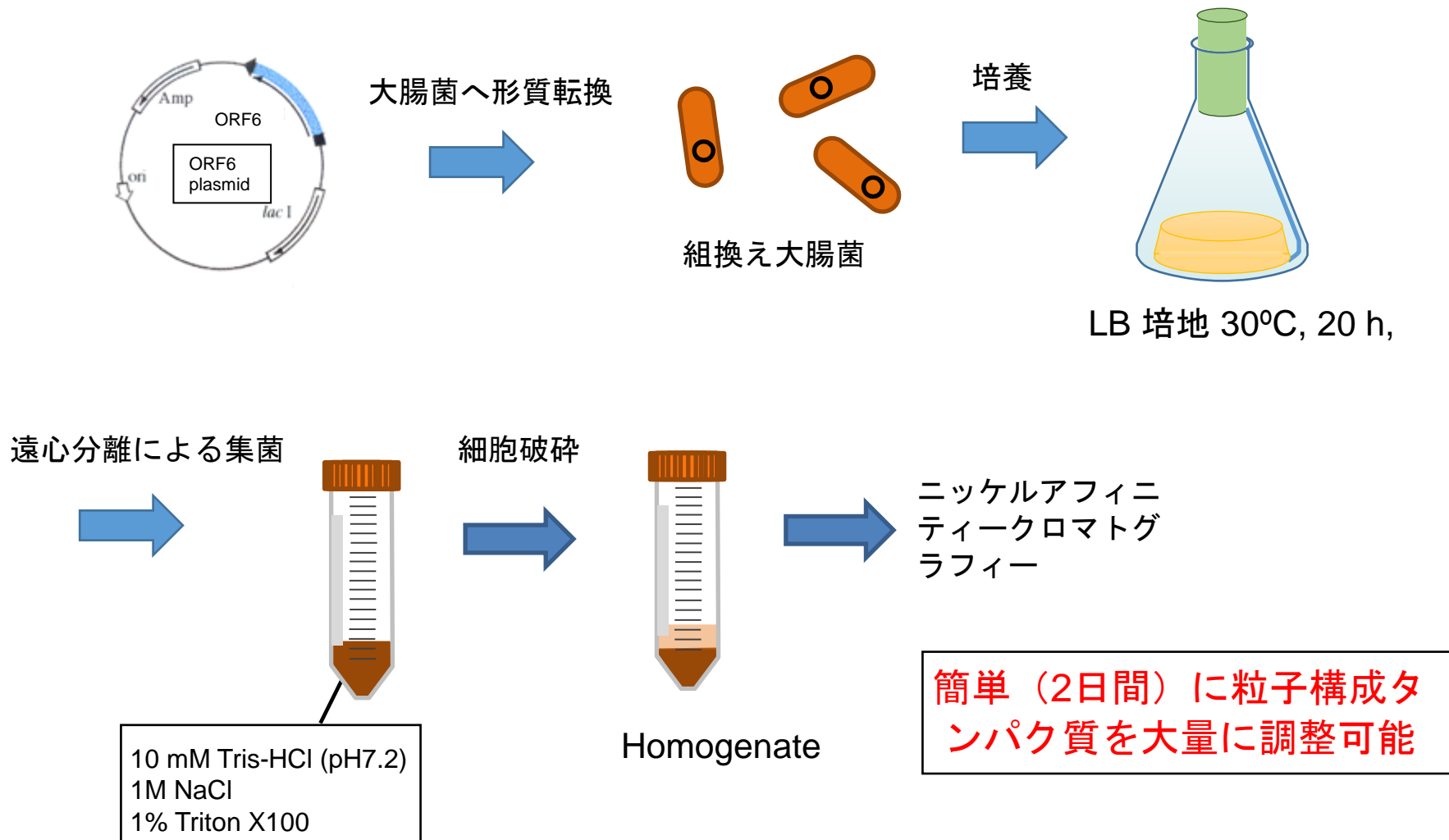
成 果

- ウイルス粒子主要構成タンパク質（ORF6-81）の大腸菌による組換えタンパク質の大量調製法の構築に成功した。
- 組換えタンパク質で構成されるウイルス粒子再構成方法の確立に成功した。
- 再構成粒子は有機溶媒、タンパク質変製剤中でも粒子形状を維持していた。
- 粒子表面に官能基（SH, NH₂など）、ペプチド配列を提示したナノ粒子の作成に成功した。

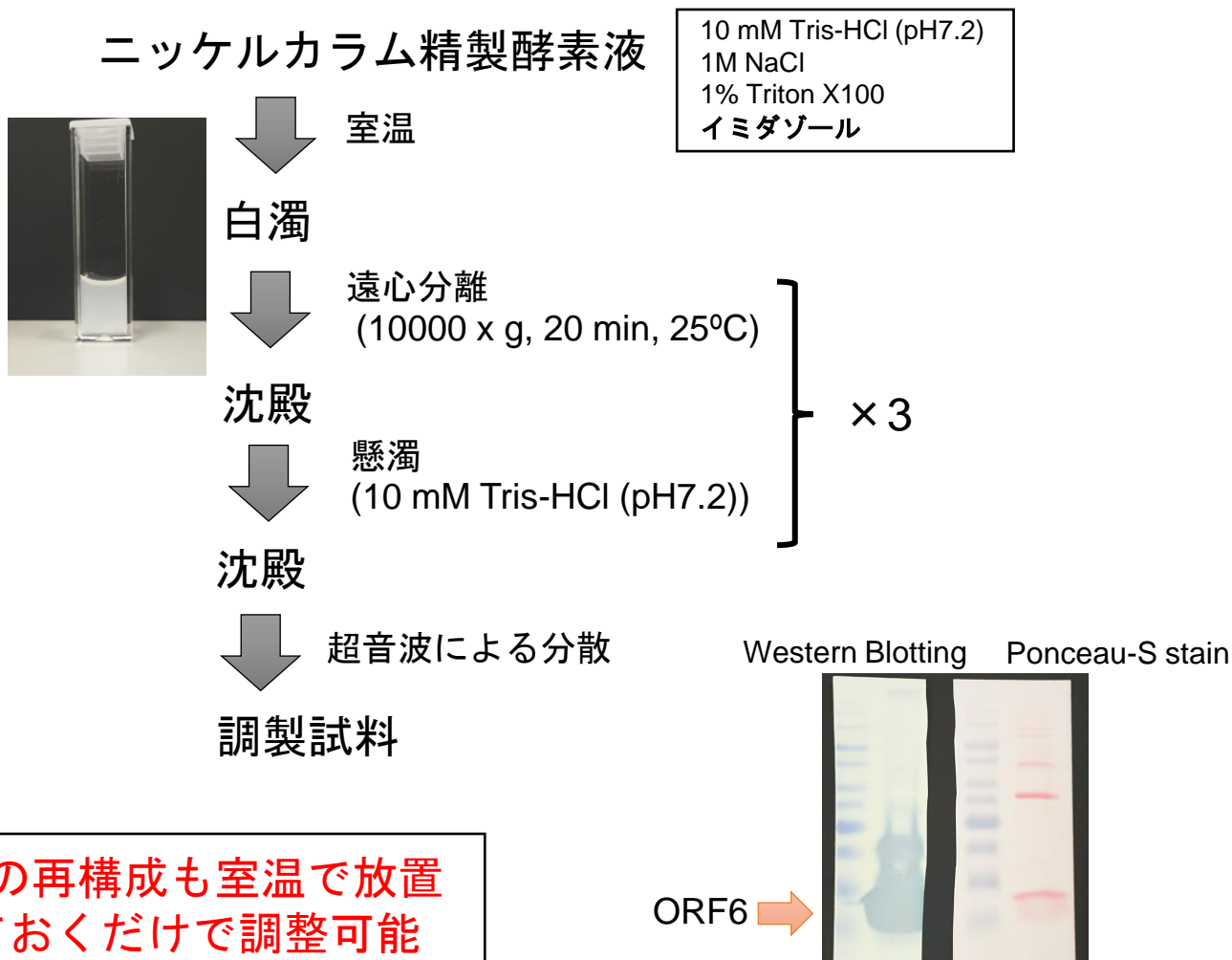
可 能 性

- ・これまで利用されている有機ナノ材料と同様の取り扱いがウイルス粒子でも可能
- ・粒子に様々な機能性の付与が可能

極限環境ウイルス粒子構成タンパク質の大腸菌による発現と調整



組換え粒子構成タンパク質の粒子再構成法

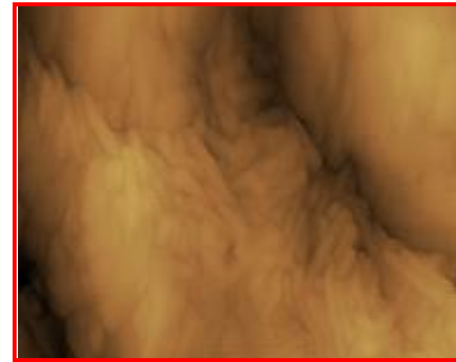
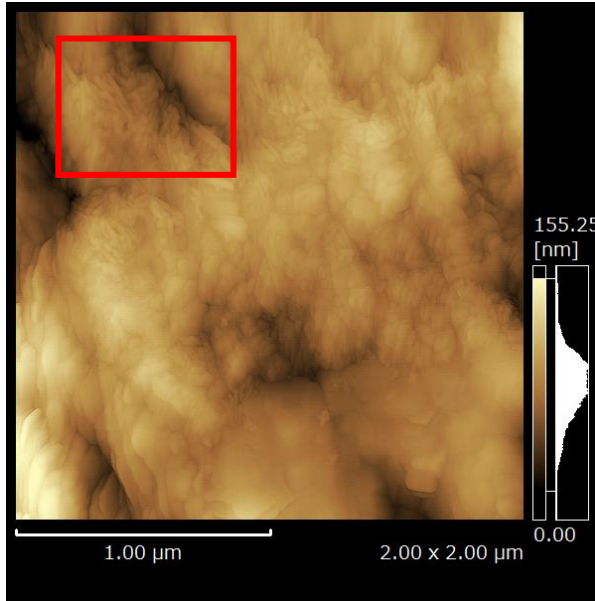


粒子の再構成も室温で放置
しておくだけで調整可能

再構成したウイルス様粒子

原子間力顕微鏡 (AFM) 像

懸濁液: 10 mM Tris-HCl (pH7.2)



透過型電子顕微鏡 (TEM) 像

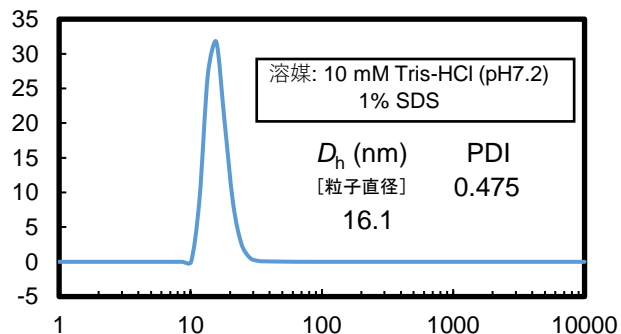


(粒子形状: 桿状150 nm × 10 nm)

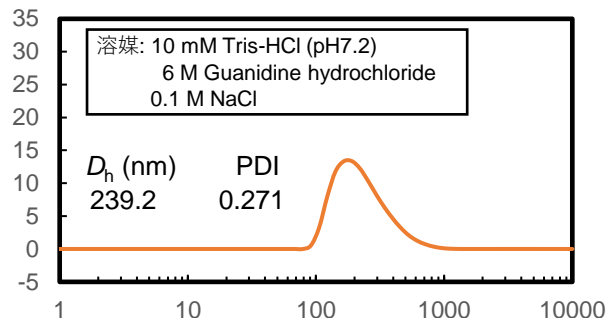
簡便に粒子構成タンパク質の調製、粒子形成が可能

動的光散乱法による粒度分布測定

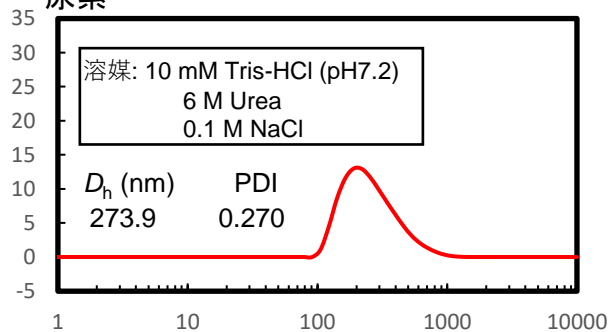
SDS



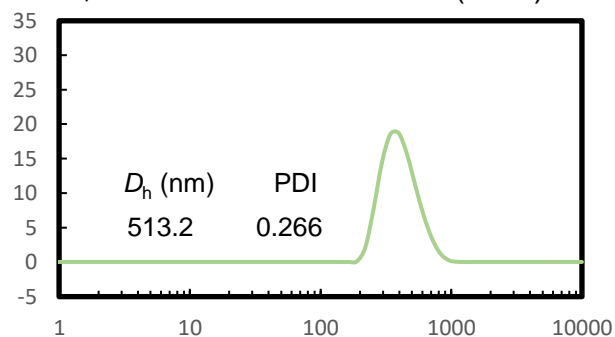
Guanidinium 塩酸



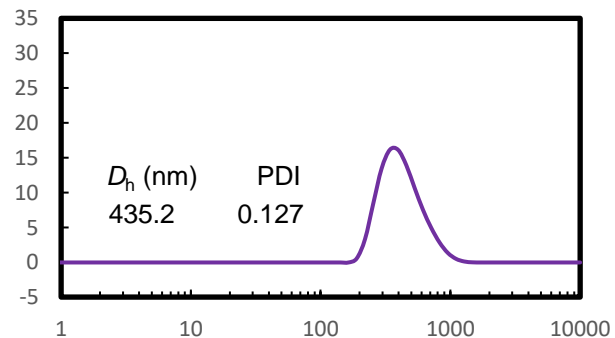
尿素



N,N-ジメチルホルムアミド (DMF)



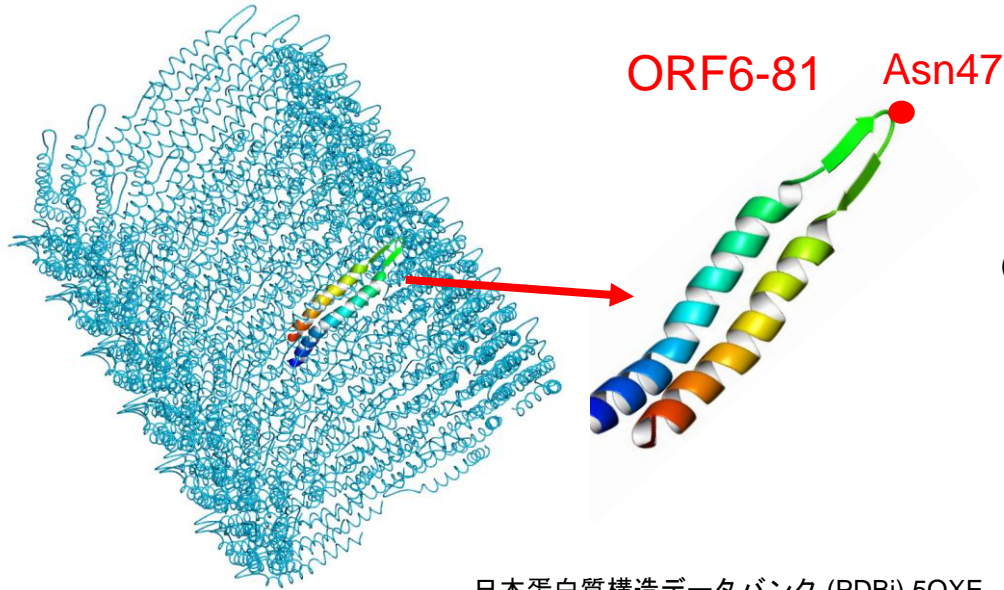
イソプロパノール



(粒子形状 : 桿状150 nm × 10 nm)

タンパク質変製剤、有機溶媒中でも粒子形状を保持することができる

再構成粒子表面への化学修飾による機能性ナノ粒子



粒子表面への官能基の付与

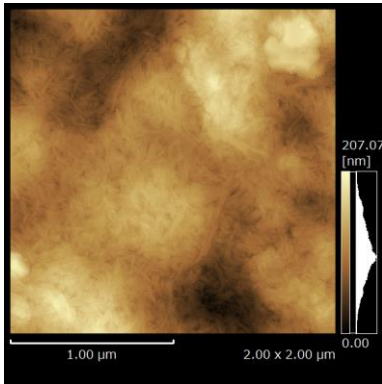
Asn47 (functional group) → Cys (-SH) Lys (-NH₂)

ORF6-Cys ORF6-Lys

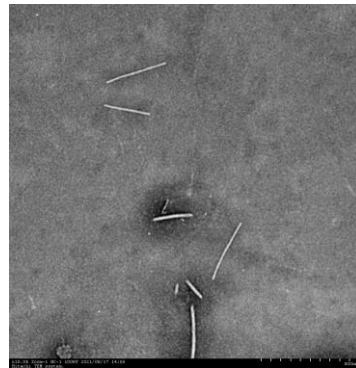
DYKDDDDK
(Flag-tag)

ORF6-Flag

ORF6-Lys再構成粒子のAFM像



ORF6-Flag再構成粒子のAFM像



粒子表面に官能基を提示することが可能

粒子表面にペプチドを提示することが可能

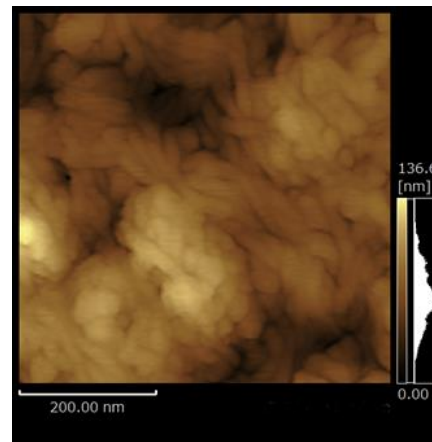
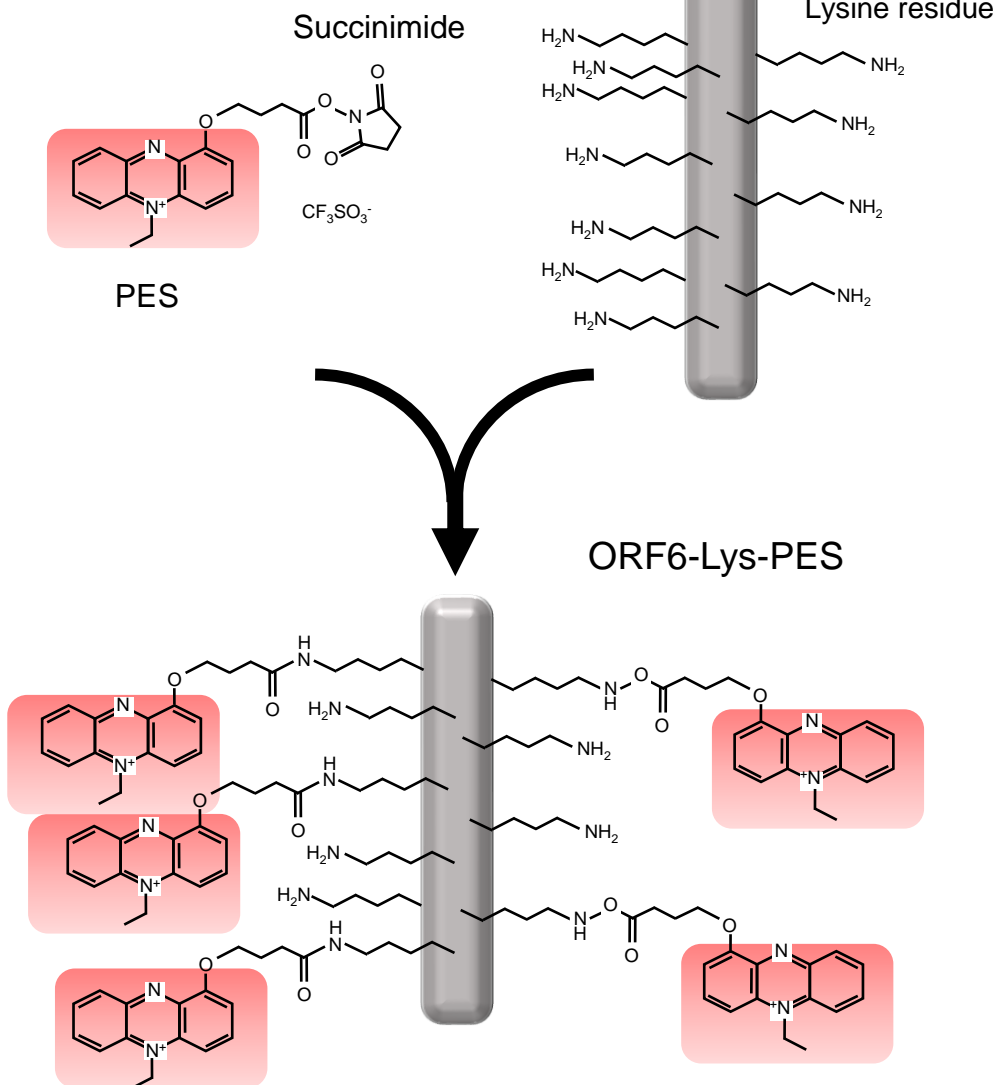
再構成粒子表面のアミノ基への化学修飾

arPES

ORF6-Lys

ORF6-Lys-PESのAFM像

ORF6-Lys-PES



作成した粒子表面に様々な機能を付与することが可能

従来技術とその問題点

従来技術

ウイルスの粒子構成タンパク質をナノ粒子材料として利用しようとする試みは行われている。

問題点

有機溶媒、高温中など過酷な条件下では粒子タンパク質が変性してしまうため

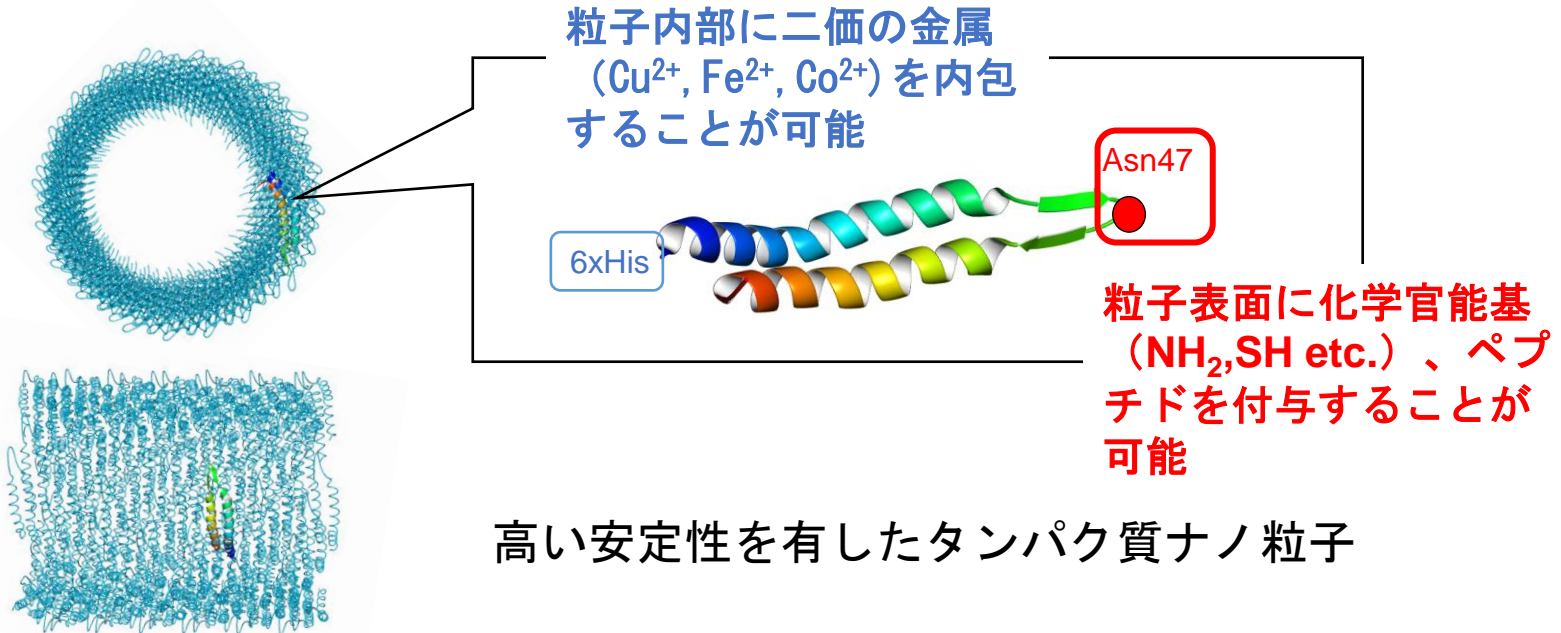
現状

広く応用利用されるまでには至っていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来の問題であった、粒子の安定性を極限環境ウイルス粒子を用いることで、有機溶媒、高温中など過酷な条件下でも粒子形状を維持できる安定性の高いナノ粒子を作成することに成功した。
- 本技術を用いることによって有機溶剤中、高温中でもタンパク質から構成される機能性ナノ粒子を扱うことができるため、様々な有機化合物を粒子表面に付与したナノ粒子を作成することが可能である。

想定される用途



粒子に特定の化合物（薬剤）を内包したナノ粒子

ドラッグデリバリーシステム

粒子表面に新規化合物を付与したナノ粒子
(レドックスメディエータPESナノ粒子)

電子ナノ材料

粒子に金属を付与した導電性ナノ粒子
(His-tag: Cu, Fe, Co内包、Cys: Au-SAM)

粒子表面にペプチド配列を付与したナノ粒子

ワクチン製造

実用化に向けた課題

- どのような化合物が粒子に内包でき、粒子内にその化合物が保持できるのか実験データを取得し、ドラッグデリバリーシステムに適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 作成した導電性ナノ粒子がどの程度の導電性を示すのか実験データを取得する。
- 現在、ペプチド程度の配列ならば粒子表面に提示することが可能なところまで開発済み。しかし、どの程度の大きさのペプチドを提示できるのかは未解明である。

企業への期待

- 有機溶媒中での薬剤内包徐放を考えている企業には本技術の導入は有効であると思われる。
- 導電性ナノ材料を開発技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- タンパク質（抗原物質など）を表面に提示した安定性の高いナノ粒子作成に興味のある企業との共同研究を希望。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 ：
 極限環境ウイルス粒子のタンパク質又はその修飾型からなる
 桿状粒子、その製造方法、及びその使用方法
- 出願番号 ：**特願2021-193199**
- 出願人 ：**福井大学**
- 発明者 ：**里村 武範**

お問い合わせ先

福井大学 産学官連携本部
コーディネータ 奥野 信男

TEL 0776-27-8956

FAX 0776-27-8955

e-mail office@hisac.u-fukui.ac.jp