

2P-061 ケイ藻由来フェリチンと低濃度 Cd イオンによる CdSe ナノ粒子の作製

○山根 みどり¹, 山下 一郎^{1,2}, 岩堀 健治^{1,3}
 (¹奈良先端大・物質, ²阪大院・工, ³科技構・さきがけ)
 holy@ms.naist.jp

【背景・目的】 球殻状のフェリチンタンパク質は直径 12 nm で内部に直径 7 nm の空洞を保持している。フェリチンは哺乳類から細菌まで普遍的に存在するタンパク質であるが、近年、海洋性ケイ藻類 (*P. multiseriata*) において初めてその存在が確認された。我々は既にケイ藻由来フェリチンの大量発現系の構築と大量精製法の確立を行い、ケイ藻由来の変異フェリチン (FerA) の取得に成功している。また FerA の鉄イオンの初期取り込み量は、哺乳類由来のウマフェリチンの 10 倍以上であることを示した。今回、さらに FerA の性質検討を行うとともに、鉄以外の二価カチオンである Cd イオンの取り込みと低濃度 Cd イオン環境下での CdSe ナノ粒子作製を試みた。

【方法・結果】 ウマフェリチンで成功している CdSe ナノ粒子作製条件を用いて FerA に対して CdSe ナノ粒子作製を試みた。0.2 mM 以上の酢酸カドミウムを用いた場合 FerA 同士が沈殿してしまい CdSe ナノ粒子形成が阻害された。FerA の構造を詳細に検討した結果、フェリチン外表面に存在しているシステイン残基が Cd イオンの取り込みを阻害していると考えられたため、我々はこのシステイン残基を除去した変異フェリチン (FerA-dCys) を作製し再度 CdSe ナノ粒子作製を試みた。その結果 0.2 mM 以上の酢酸カドミウム存在下でも沈殿形成が見られず CdSe ナノ粒子の作製が可能となった。さらに、低濃度酢酸カドミウムによる CdSe ナノ粒子形成についてウマ由来フェリチンと比較した結果、FerA-dCys は 0.02 mM という非常に低濃度で CdSe ナノ粒子を作製できることが明らかになった。

Synthesis of CdSe NPs by using a low concentration of cadmium ion and the apoferritin of marine pennate diatom

○Midori Yamane¹, Ichiro Yamashita^{1,2}, Kenji Iwahori^{1,3}
 (¹Grad. Sch. Mater. Sci., NAIST, ²Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., ³JST. PRESTO)

Key words ferritin, CdSe, nanoparticle, biomineralization

2P-062 Effect of oxidized derivatives of Cholesterol on Endocytic Vesicular Transport of Amyloid beta (Aβ-42)

○Neha Sharma¹, KeangOK Beak¹, Huong Thi Thanh Phan², Naofumi Shimokawa¹, Masahiro Takagi¹
 (¹Sch. Mater. Sci., JAIST, ²Hanoi Natl. Univ. Of Educ.)
 takagi@jaist.ac.jp

Introduction: Assembling and accumulation of Amyloid beta which causes neurotoxicity in the brain is hallmark in the pathology of Alzheimer's disease. One of the causes of apoptosis is Endoplasmic reticulum (ER) stress which occurs when newly translated proteins get misfolded in the ER. ER stress is also induced by externally added Aβ-42, we proposed that the cause is endocytic vesicular transport. In the past research, it was found that 7-ketocholesterol (7-keto) enhanced the association of Aβ-42 with the cell membrane though its presence could not result in the endocytic transport. Thus in present study we took 25-hydroxycholesterol (25-OH) to observe phenomenon.

Results and discussion: We studied the interaction and endocytic transport of Aβ-42 in the Jurkat cells in the presence of oxysterols. The association was enhanced with both of the oxysterols though endocytic transport could be observed exclusively in case of 25-OH. Further, we found that intracellular calcium level was affected in the presence of oxysterols.

Conclusion: 25-OH Cholesterol is essential for endocytic transport of Aβ-42 in the Jurkat T cells. Hence the study will benefit the understanding about the role of neuro-specific oxysterols in the process of cytotoxicity induced by Aβ-42 which commonly affect human brain in older age.

Effect of oxidized derivatives of Cholesterol on Endocytic Vesicular Transport of Amyloid beta (Aβ-42)

○Neha Sharma¹, KeangOK Beak¹, Huong Thi Thanh Phan², Naofumi Shimokawa¹, Masahiro Takagi¹
 (¹Sch. Mater. Sci., JAIST, ²Hanoi Natl. Univ. Of Educ.)

Key words amyloid, ER stress, Endocytosis, Calcium level

2P-063 酵素触媒を利用した合成ポリマー上への異種タンパク質の集積化

○佐伯 貴史¹, 八尋 謙介¹, 若林 里衣¹, 後藤 雅宏^{1,2}, 神谷 典穂^{1,2}
 (¹九大院・工, ²九大・未来化セ)
 nori_kamiya@mail.cstm.kyushu-u.ac.jp

【背景と目的】 近年、タンパク質の有効利用や高機能化を目的として、合成ポリマーとの複合化に関する研究が進められている。そこで本研究では、合成ポリマーを一次元の足場分子とし、そこへタンパク質を集積化した新規タンパク質-ポリマー複合体の開発を目的としている。

【実験方法】 合成ポリマー上へのタンパク質集積法として、微生物由来トランスグルタミナーゼ(MTG)による Gln 残基と Lys 残基側鎖間の部位特異的架橋反応を選択した。また、モデルタンパク質として、それぞれに MTG 認識 Lys 配列を融合した大腸菌由来アルカリホスファターゼ、高感度緑色蛍光タンパク質、プロテイン G を選択し、分子サイズの異なるタンパク質の集積化に関する基礎検討を行った。まず MTG 認識 Gln 部位(Z-QG)を有するモノマーを合成し、アクリルアミドとの共重合により Z-QG ポリマーを調製した。次いで各 K-tag 融合タンパク質と Z-QG ポリマーを MTG により架橋させ、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動ゲルの画像解析により、各タンパク質の集積化率評価を行った。また、得られた各複合体の機能性評価も併せて行った。

【結果と考察】 合成ポリマー上へ効率的に各タンパク質を集積することに成功した。また、用いるタンパク質の分子サイズおよび集積化の順番が、複合体の生成効率に及ぼす影響について新たな知見を得ることに成功した。さらに、得られた複合体を抗原検出系等へ応用可能であることを明らかにした。

Enzymatic assembly of proteins onto synthetic polymer scaffold

○Takafumi Saeki¹, Kensuke Yahiro¹, Rie Wakabayashi¹, Masahiro Goto^{1,2}, Noriho Kamiya^{1,2}
 (¹Fac. Eng., Kyushu Univ., ²CFC, Kyushu Univ.)

Key words protein-polymer hybrid, synthetic polymer scaffold, transglutaminase, enzymatic modification

2P-064 新規 Pd 親和性ペプチドの探索およびタグ連結タンパク質の固定化特性解析

○的場 晴香, 石田 尚之, 今村 維克, 今中 洋行
 (岡山大院・自科)
 imanaka@okayama-u.ac.jp

目的: 固体表面に生体分子を固定し、相互作用を検出する技術は医療、創薬、食品等の幅広い分野で利用されており、検出の高感度化には、固定化の際に生じる構造変化の抑制および固定化配向の制御が重要である。我々はこれまでに固体表面に親和性を示すペプチドを用いた生体分子の機能的固定化技術の開発を進めてきた。本研究では、モデル基板であるパラジウム(Pd)に対して高い親和性を示すペプチド(Pd-tag)を T7 ファージランダムペプチドライブラリーよりスクリーニングすると共に、タンパク質固定化のタグとして用いるべく、固定化特性の評価を目的とした。

方法と結果: まず、T7 ファージライブラリーおよび Pd 基板を用い、新規 Pd 表面親和性ペプチドを探索した。バイオパニング後、単離した計 361 クローンの塩基配列を解析し、候補 Pd-tag を 17 種類に絞った。そして *Archaeoglobus fulgidus* 由来 Esterase(EstAf)をモデル酵素とし、候補 Pd-tag 連結 EstAf の Pd 基板固定化後の残存活性を評価した。その結果、すべての候補 Pd-tag 連結 EstAf について残存活性が増大し、Pd-tag による固定化後の機能維持効果が示唆された。さらに、O-acetylserine sulfhydrylase(OASS)と Serine acetyltransferase(SAT)との相互作用をモデルとし、固定化配向制御特性を調べた。各末端に候補 Pd-tag を連結した OASS を固定化後、SAT との相互作用検出量を比較評価した。その結果、Pd-tag 連結末端の違いによる検出量の差異が顕著にみられた。これらの検討を通じて、固定化配向の精密制御が可能な Pd-tag の取得に成功した。

Screening of a novel Pd affinity peptide tag and characterization of tag conjugated protein immobilization

○Haruka Matoba, Naoyuki Ishida, Koreyoshi Imamura, Hiroyuki Imanaka
 (Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Okayama Univ.)

Key words affinity peptide, protein immobilization, T7 phage, Pd