

訪問日 2023年9月4日

京都大学 大学院 工学研究科 久保 拓也 准教授

研究題名：(糖) タンパク質の高感度検出及び三次構造解析のためのヒドロゲル開発

久保准教授の研究室に訪問して(図1)、研究インタビューをさせていただきました。

助成研究の概要

糖・タンパク質の三次構造を含む選択的な検出及び高次構造解析を目的としたインプリントヒドロゲルの開発(図2)です。タンパク質は、それぞれが独自の三次構造を形成し、離合集散をくりかえしながら多様な生命現象を支配しています。特に、これらの生体反応ではタンパク質の三次構造が重要であり、アミノ酸配列や場合によっては糖鎖の立体的な配置を正確に理解する必要があります。同様の情報は、昨今のSARS-CoV-2等の抗体検出、解析においても重要であり、with/post コロナ時代を戦うための新たなタンパク質解析の手段が必要不可欠です。タンパク質の検出における先行研究では、FITC (fluorescein isothiocyanate) などの蛍光標識が通常用いられていますが、媒体基材の非特異吸着性、タンパク質のラベル化の必要性などの課題があります。これらに対して本研究で提案する分離・検出手法では、非特異吸着性の極めて低いヒドロゲルによって目的タンパク質のみが選択的に捕捉・検出されます。また、光刺激反応性ゲルとMS/MS解析を用いた手法は、高次構造の表面を化学結合で捉える光刺激反応性高分子を創成することで、高次構造情報をアミノ酸レベルで抽出する世界でも類を見ない発想であり、既存の分光学的手法では得られなかった微量タンパク質の構造変化やリガンド認識部位に関する情報を新たに取得することが可能となります。

不可能を可能に

20年以上、選択的に分子認識する人工材料を作り続けています。その応用として今回の助成研究があります。基本となるのが分子インプリント法と呼ばれる方法で、分子認識材料の合成手法として知られていて、目的物質を分子鋳型として用いて、架橋高分子内部に分子レベルの「鍵と鍵穴」を構築する手法です。通常は疎水性かつ硬質の材料で目的の低分子物質を捕捉し、検出します。本来の考え方ですと、タンパク質のような高分子でかつ、親水性のものを対象とするのは不可能と言われていました。それは、これまでの分子鋳型は固定化した鍵穴を作るので、タンパク質のようにフレキシブルな物質を捕捉することが出来ないということで、どれだけ頑張っても体の中にあるタンパク質とか受容体とか、酵素とかの分子認識のレベルに比べると劣っています。そこで、実際のタンパク質の分子認識に近いものを作るためには、分子鋳型をフレキシブルなものにすれば認識出来るはずだと着想しました。タンパク質を捕捉する分子認識材料として高精度のものを作るためにはタンパク質を捕捉する機能と、フレキシブルな高分子でも捕捉が出来るという二つのことを達成目標とし、高分子をターゲットにしたものづくりを始めました。そうして、高分子のポリエチレングリコールをベースとし、硬さや柔軟性をコントロールして作製したヒドロゲルの分子認識材料は、通常のタンパク質がタンパク質を捉まえる時の結合に近い値を得ています。また、pH

の違いで構造が変わるタンパク質を、組成は同じでタンパク質と同じ pH で作製したヒドロゲルで捕捉することも可能となりました。

理論から実用まで

現在、三つの大きなテーマに取り組んでいます。一つは、弱い相互作用を使って、分けられないものを分けるというテーマで、実用化は難しいのですが、理論的なことを探索しています。二つ目は、今回の助成研究も含めた分子認識のテーマです。三つ目は、より実用的なテーマで、京都大学の起業支援プログラムなどを活用して取り組んでいます。「分離」というキーワードで、理論的なところから実用的なところまでやれるのは強みかなと思っています。

続けること

指導している学生には、あまり自分の考えを押し付けないようにしています。研究の目的を告げて、プロセスやアプローチに関してはできるだけ自由にやらせてもらうことにより、新しいことが出てくる可能性があります。また、ずっとやり続けているのは、教員になって 20 年位になりますが、指導する学生全員の名前の入った英語論文を出すことを自身の義務として行っています。学生も自分の名前が入った英語論文が世の中に出て名前が残ることは嬉しいみたいです。

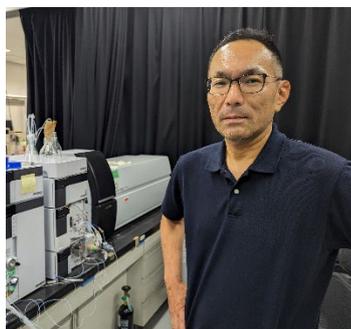


図 1 久保准教授

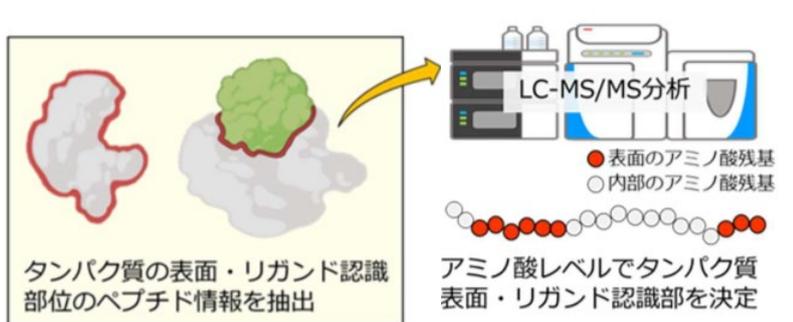


図 2 インプリントヒドロゲルとタンパク質高次構造解析の概念