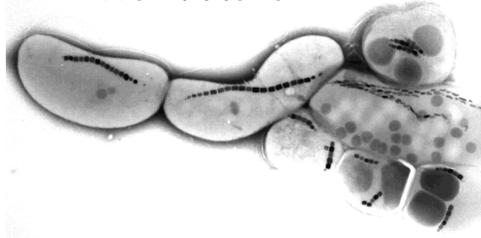


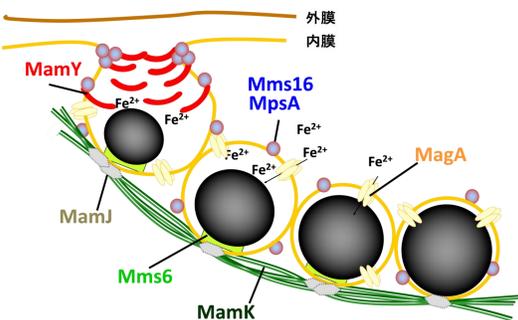
## 研究の強み

### ● 生物機能の模倣

#### 磁性細菌



体内にナノサイズの磁石を作り地磁気を感じ取るコンパスとして利用することで酸素から逃れる微生物



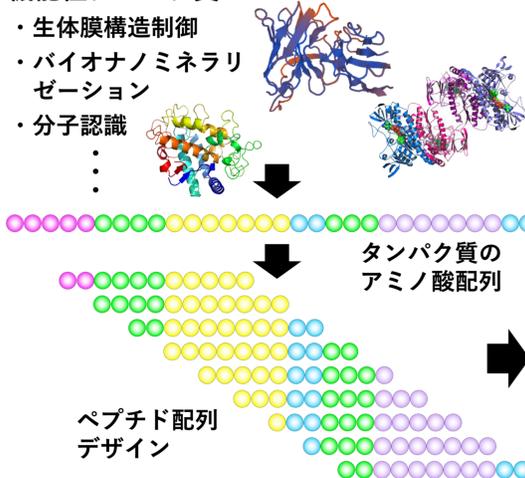
- ・ 生体膜構造制御
- ・ バイオナノミネラリゼーション
- ・ 分子認識

*J. Bac.* 198(20), p2794-802 (2016)., *Appl. Environ. Microbiol.* 82(13), p3886-91 (2016)., *Sci. Rep.* 6, 29785 (2016)., *Mol. Microbiol.* 93(3), p554-67 (2014).

### ● 機能発現領域 (ペプチド) の同定

#### 機能性タンパク質

- ・ 生体膜構造制御
- ・ バイオナノミネラリゼーション
- ・ 分子認識
- ...



#### 機能発現領域 (ペプチド) の探索



機能発現領域 (ペプチド) < 10 nm

- ・ ナノ材料界面の機能化 → ナノバイオセンサ
- ・ ナノ材料合成の鋳型 → ナノ材料の緻密なグリーン合成

*Chem. Lett.* 48(8), p978-81 (2019)., *Sens. Actuators B Chem.* 264, p279-84 (2018)., *ACS Comb. Sci.* 19(10), p625-32 (2017)., *Sensors.* 17(10), 2249 (2017).

## 研究内容 | バイオセンシング

### ● バイオセンシング界面の構築

分子認識ペプチド

リンカーペプチド

材料認識ペプチド

ナノ材料

ペプチド層

ペプチド修飾ポアセンサによる極微量微生物計測

ペプチド界面による効率的な微生物捕捉

バイオセンサへの応用

標準微生物の捕捉・検出

相互作用

相互作用

未修飾

修飾

E. coli

ペプチド修飾材料

微生物捕捉効率の評価

Trapped cell number (cells/mm<sup>2</sup>)

未修飾

修飾

16.4

16.2

16.0

15.8

15.6

15.4

15.2

100

50

0

Wild-type

Δ*iC*

Wild-type

Δ*iC*

No peptide

With peptide

No peptide

With peptide

*J. Am. Chem. Soc.*, 140(48), p16834-41 (2018)., *RSC Adv.* 8, p8795-9 (2018)., *Anal. Chem.*, 90(3), 1511-5 (2018).

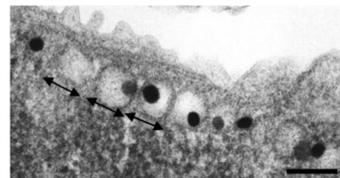
## 研究内容 | 生体膜構造の制御

#### 磁性細菌



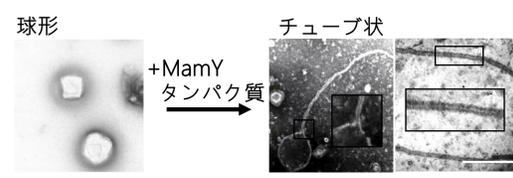
*Magnetospirillum magneticum* AMB-1

### ● mamY遺伝子欠損株

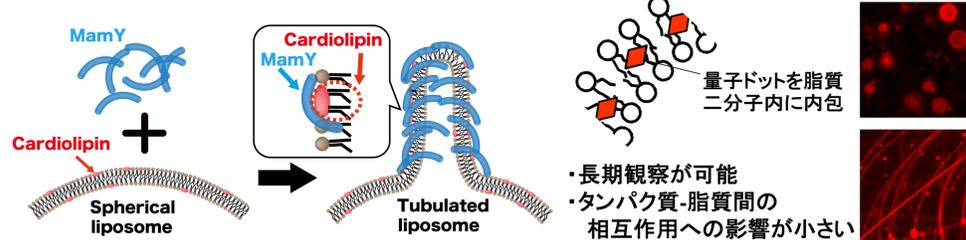


生体膜サイズが増加

### ● 生体膜構造制御評価



生体膜構造が変化



### 分子機構の理解と新規な脂質ナノチューブ合成

*Biotechnol. J.* 13(12), e1800084 (2018)., *Small* 8(10), p1590-5 (2012)., *Mol. Microbiol.* 76(2), p480-8 (2010).

## 研究内容 | バイオナノミネラリゼーション

### ● バイオナノミネラリゼーションペプチドの探索



HAuCl<sub>4</sub>

ペプチドアレイ

粒子合成活性の評価

画像解析から合成される粒子物性の情報を取得

AuP1

21

41

61

81

101

121

141

161

181

1) 蛍光性金ナノ粒子のTEM像

2) 蛍光性金ナノ粒子の蛍光観察

Peptide

Peptide + HAuCl<sub>4</sub>

3) 三角ナノプレートのTEM及びSEM画像

4) 10面体ナノ粒子のTEM及びSEM画像

50 nm

25 nm

50 nm

25 nm

R1 R2 R3 G1 G2 G3 B1 B2 B3

### 機能性金ナノ粒子のグリーン合成

*Nanoscale Adv.* 48, p978-981 (2019)., *Acta Biomater* 49, p495-506 (2017).

## 今後の研究と共同研究の希望

- ・ 新たな生命現象の理解に資する工学的ツールの創製
- ・ 生命現象の分子レベルでの理解
- ・ 生物機能を模倣した技術、材料などの開発と応用

## センサやキットの開発を通じた事業展開

## Abstract

現在、爆発物のオンサイト検出は主に爆発物探知犬が担っている。当研究室はこれまでに、2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) を対象とし、TNT認識ペプチドを同定した上で表面プラズモン共鳴 (SPR) による高感度検出技術の開発を行ってきたが、(1)装置が高価、(2)実験操作が煩雑、(3)校正・検出に時間を要するなどの課題が存在した。そこで本研究では蛍光ナノ粒子を利用し、**蛍光を利用した簡便かつ迅速な検出を目指した**。具体的には、TNT認識ペプチドを固定化したCdTe/CdS量子ドットを使用し、TNTとの結合に伴う蛍光の消光から検出を試みた。

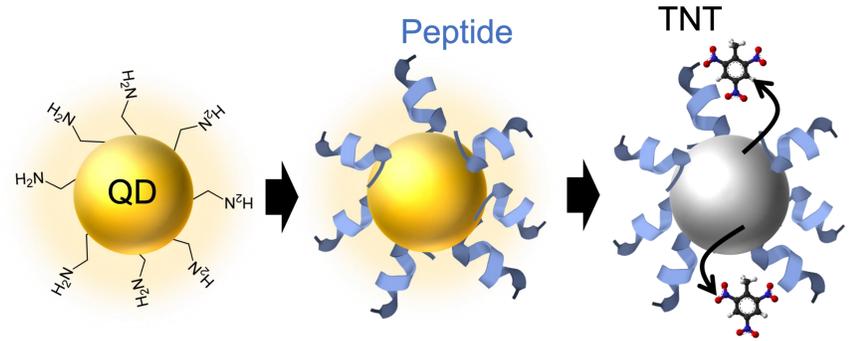


Fig. TNT detection mechanism by fluorescent quenching of peptide modified QDs.

## CdTe/CdS量子ドットの合成・特性評価

1. 水相でCdTe/CdSコアシェル型量子ドットを合成

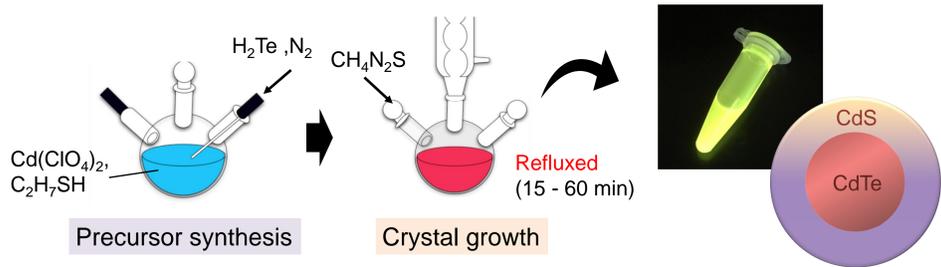


Fig. Aqueous synthesis scheme of CdTe/CdS quantum dots.

2. 蛍光分光光度計および透過型電子顕微鏡 (TEM) により、量子ドットの蛍光スペクトル、量子効率および粒径分布を測定

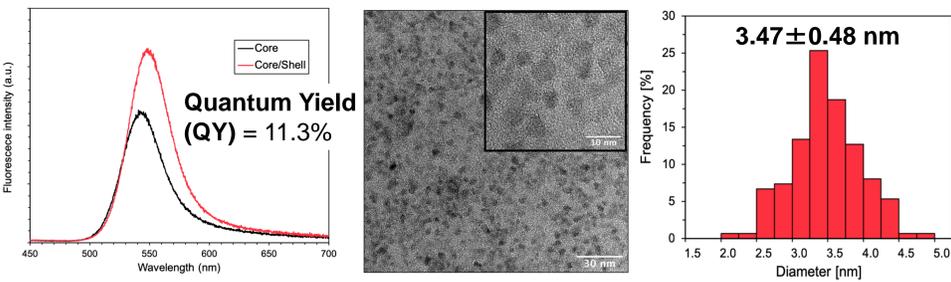


Fig. Fluorescence spectra of CdTe and CdTe/CdS quantum dots.

Fig. TEM image and the size distribution of quantum dots acquired by TEM.

粒径3.47 nm、量子効率 11.3% の量子ドットを合成

## TNT認識ペプチドの量子ドット表面への固定化

1. TNT抗体の相補性決定領域 (CDRs) よりTNT認識ペプチドの取得

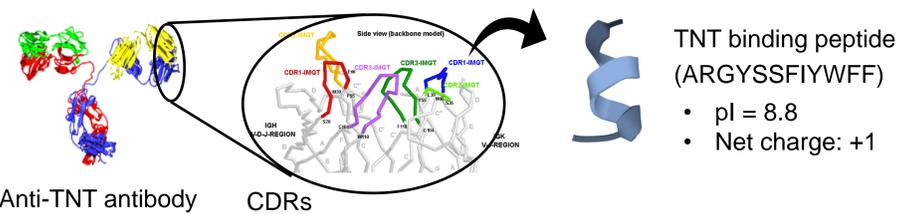


Fig. TNT binding peptide derived from Heavy chain CDR3 of anti-TNT antibody.

2. C末端にCysteineを付加したペプチド (ARGYSFIYWFFC) を QD表面にチオール基のリガンド交換反応によって固定化

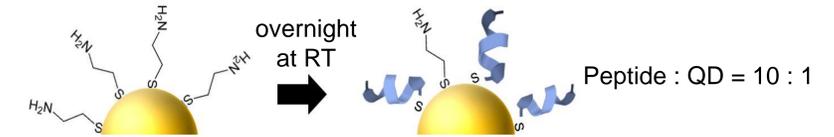


Fig. Peptide modification on the quantum dots surface via thiol ligand exchange reaction.

3. ζポテンシャル、動的光散乱 (DLS) による固定化の確認

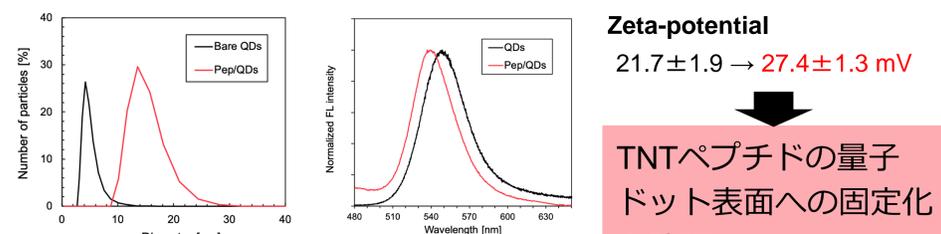


Fig. Size distribution and FL spectra shift after modification.

TNTペプチドの量子ドット表面への固定化を確認

## 量子ドットを用いたTNTの迅速かつ簡便な検出

1. TNT滴下時の蛍光強度変化

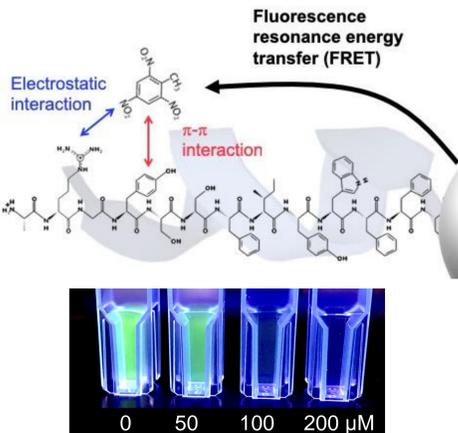


Fig. Proposed mechanism of TNT binding and QDs quenching under UV lamp.

100 nMのQDs溶液にTNTを滴下後の蛍光強度を蛍光分光光度計により測定

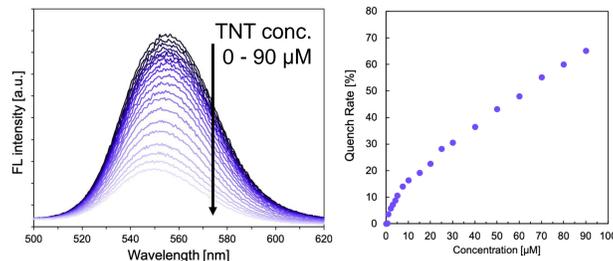


Fig. Fluorescence intensity with increasing concentration of TNT (0-90 μM) and the relationship between quench rate and TNT concentration.

検出限界は1 μM (228 ppb) 程度であった。

溶液滴下による簡便な検出

2. TNT滴下後の反応時間測定

100 nMのQDs溶液に50 μMのTNTを滴下後の蛍光強度の経時変化

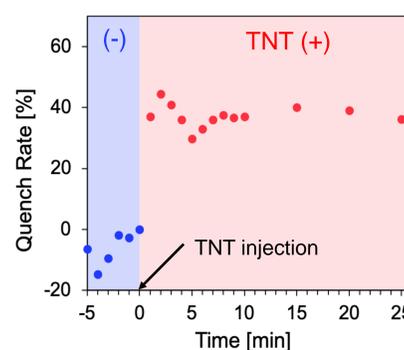
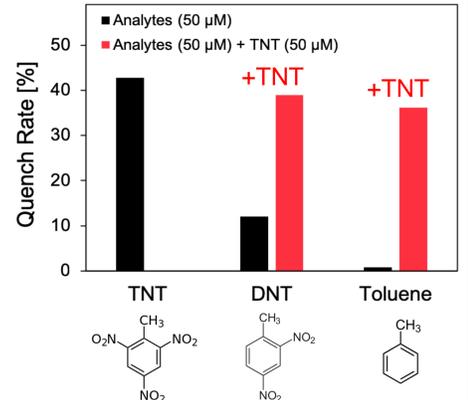


Fig. FL intensity change over time.

1分以内での迅速検出

3. 選択性試験



類似化合物に対する選択性を確認

## Conclusion

本研究において、量子ドットの水相での合成およびチオール基のリガンド交換反応を利用したTNT認識ペプチドの表面への修飾が可能であることを確認した。また、量子ドット溶液に対してTNTを滴下するのみで蛍光が減衰することが観察され、簡便な検出が実現した。蛍光分光光度計を用いた測定では、**検出限界は1 μM (228 ppb) 程度、かつ1分以内の迅速な検出が可能であることが示された**他、**類似芳香族化合物に対する選択性も確認された**。本研究成果は、SPR等のセンサーによるオンサイト検出技術での課題であった煩雑な操作や検出時間の問題を解決することにより、爆発物探知犬に代わる新たな爆発物検出技術の開発の可能性を示すものである。