

ペプチド固定化ビーズを用いた種々の β -バレル型ナノポアの作製と分析

(甲南大 FIRST¹・東京農工大工²・横浜国立大工³) ○栢森 史浩¹・仮屋 拓斗¹・小林 もえ¹・彭 祖癸²・川村 出³・川野 竜司²・臼井 健二¹

Fabrication and analysis of β -barrel type nanopores using peptide-immobilized beads

(¹*Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology, Konan university,* ²*Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology,* ³*Graduate School of Engineering Science, Yokohama National University*) ○Fumihito Kayamori,¹ Takuto Kariya,¹ Moe Kobayashi,¹ Zugui Peng,² Izuru Kawamura,³ Ryuji Kawano,² Kenji Usui¹

Peptide-based nanopores have attracted much attention, recently. We have developed β -barrel-type nanopores using β -sheet peptides. In this study, in order to construct nanopore-forming peptide library, we investigated fabrication methods of nanopores using peptide-immobilized beads. By using peptide-immobilized beads with a photocleavable linker, we succeeded in synthesizing highly aggregating peptides with high purity without using O-acylisopeptide method. In the near future, we will synthesize various peptides with the photocleavable linker and attempt to design peptide sequences with statistical analysis.

Keywords : *Peptide-immobilized beads; Photocleavable linker; Peptide nanopore; β -sheet peptide; Aggregation*

分子識別能を有するナノポアは、分子センサーやシーケンサーとしての応用が進められている。分子識別能はナノポアの構造やサイズに依存するが、現状のナノポア作製法ではそれらの制御が難しい。そこで我々はペプチドを用いたナノポア¹⁾に着目し、 β シートペプチド (SVG28) から成る β -バレル型ナノポアを開発してきた²⁾。SVG28の合成では O-アシルイソペプチド法³⁾を用い、合成や精製時に問題となるペプチドの凝集の抑制に成功した³⁾。しかし、設計した様々なペプチドとそれらが形成するナノポアの高次構造との関係を網羅的に解析するためには、より簡便かつ効率的な合成法が必要であった。そこで、光開裂リンカーを導入したペプチド固定化ビーズを用い、測定の前直前に光照射によりペプチドを遊離させることが可能な手法を検討した⁴⁾。樹脂には Amino PEGA Resin、光開裂リンカーとして 3-(2-ニトロフェニル)プロピオニル基を使用して、固相合成により樹脂に担持された SVG28 を得た。このペプチド固定化ビーズへの光照射後、得られた SVG28 について CD 測定など各種分析を行ったところ、O-アシルイソペプチド法により合成した SVG28 と同等の結果が得られた。次に、設計したペプチドとそれらが形成するナノポアの高次構造との関係を調べるため、SVG28 の N 末端にアミノ酸 1 残基のみ付加した 23 種類のペプチドの合成および分析を実施した。今後、これら分析結果を用いて統計解析を行う予定である。

1) D. Qiao *et al. Sci. China Chem.*, **2022**, 65, 2122–2143.; 2) K. Shimizu *et al. Nat. Nanotech.*, **2022**, 17, 67–75.; 3) Y. Hamada *et al. Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 4155–4167.; 4) K. Usui *et al., Int. J. Mol. Sci.*, **2020**, 21, 8332.