

ペプチド結晶化のその場観察による成長条件の最適化

東京工業大学¹ ○(M1)セウド ディモ マーリズ ヴァネッサ¹, (D1)茂田井和紀¹, 早水裕平¹

Real-time monitoring of peptide crystallization for optimization of process conditions

Tokyo Tech.¹, Seudo Dimo Marlyse Vanessa¹, Kazunori Motai¹, Yuhei Hayamizu¹

E-mail: seudo.v.ab@m.titech.ac.jp

【背景】ペプチド開発においては、アミノ酸配列の設計により天然のタンパク質の機能を模倣したり、新たな機能を創出したりする研究が盛んになっています。中でも、ペプチド結晶は多孔性、秩序構造、生体適合性などを有し、材料科学、バイオテクノロジー、医学を含む様々な研究領域で関心を集めています。ペプチドの結晶化では、その構成するアミノ酸の種類や配列だけではなく、結晶化方法や結晶化条件によって、結晶が形成されるか中否かが決まります[1,2]。したがって、多様な条件下で結晶化を行い、ペプチド結晶化条件を最適化する必要がありますが、これを効率的に行うには、測定の方法の効率化や、条件検討のパラメータの選択方法など技術的な課題を克服する必要があります。これまで、ペプチドの結晶化は、創薬分野や生命科学分野で構造決定のために広く研究されてきましたが、工学的な利用目的で設計された新規ペプチドの結晶化は未だ検討されていませんでした。

【目的】そこで、多様な最適化パラメータを検討するために、長時間にわたって観測が必要なペプチド単結晶成長過程を複数の成長条件下で同時に観察する必要があります。本研究では低コストで製作し、それを用いて各結晶成長条件下でのペプチド結晶成長のリアルタイム観察を目的とします。

【実験手法と結果】アミノ酸配列が比較的短いペプチドは合成が容易で機能御製が可能のため、本研究でのモデル・ペプチドとしてジペプチド Ala-Tyr(AY)を用いました。結晶成長法には蒸気拡散法用いました。、ウエル数が 24 のマイクロウェルプレートを用いて、結晶化溶液 (NaCl) 濃度やペプチド濃度などの異なる条件でそれぞれのペプチド結晶化の過程をタイムラプス観察しました。観測に当たっては、24 ウエルを並行して観測可能な自動装置を作製し、24 時間に渡って結晶化を観察しました。定結果から、最適化された条件で、安定的にペプチドの単結晶が形成できることがわかりました (Figure 1)。

【参考文献】

- [1] (2019). *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11(4), 1–24.
- [2] Shipps, C., Kelly, H. R., Dahl, P. J., Yi, S. M., Vu, D., & Boyer, D. (2021). 118(2), 1–9.

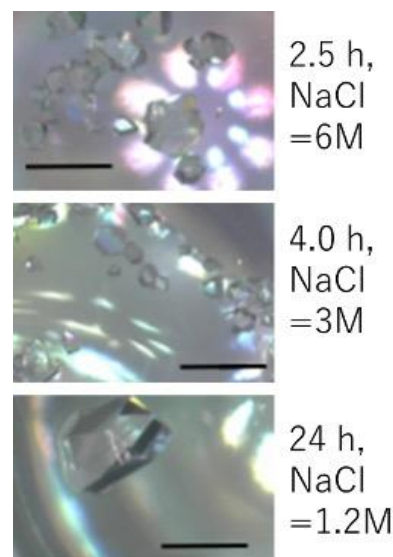


Figure 1: Optical images of peptide crystals at various conditions of NaCl concentration and incubation time. The Scale bar is 500 μm .