

報道関係者 各位

2025 年 8 月 27 日

国立大学法人東京農工大学

国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)

ウイルスと複合化する光応答性ペプチドファイバーの開発に成功 —ウイルスの三次元パターンニングによる位置選択的遺伝子導入を実現—

ポイント

- ・ ウイルスはその均一な形状と表面の高い設計性から、遺伝子導入剤^{注1)}や光学ナノ材料^{注2)}など、機能性材料の開発に広く利用される材料モチーフです。そのため、ウイルスを空間的にパターンニングすることができれば、より広い応用が期待できますが、その方法論は未だ確立されていません。本研究では、光応答性のアゾベンゼン(Az)部位を含み、機能性材料として汎用的に使用される M13 バクテリオファージウイルス(以下、M13 ファージ)^{注3)}と複合体を形成する自己集合性ペプチド^{注4)}(A2Az)を開発し、二次元、三次元におけるウイルスパターンニング手法^{注5)}を開発しました。
- ・ 光応答性のアゾベンゼン部位が導入された A2Az は、水中で螺旋状の超分子ファイバー^{注6)}へと自己集合し、ヒドロゲル^{注7)}を形成しました。A2Az におけるアゾベンゼン部位の導入位置が螺旋構造を誘起する上で重要であること、さらに、螺旋構造が M13 ファージと強く相互作用して複合体を形成する上で重要であることを明らかにしました。
- ・ アゾベンゼン部位の光異性化^{注8)}を利用することで、A2Az ファイバーを紫外光照射によって分解させることが可能であり、これにより、複合化させた M13 ファージを空間選択的に放出できることを明らかにしました。
- ・ A2Az で被覆された二次元基盤や、三次元的な A2Az ヒドロゲル中における M13 ファージのパターンニングを実現しました。特に、三次元ヒドロゲル中において M13 ファージと宿主である大腸菌を内包させ、紫外光を照射することで、空間選択的な遺伝子導入を達成しました。本研究成果は、将来的に、ウイルスを用いた遺伝子療法の発展や高度な光学材料の構築のための新たな技術基盤となり得ます。

本研究成果は 2025 年 8 月 25 日(月)、「Angewandte Chemie」オンライン版に公開されました。

論文タイトル : A Photoresponsive Hybrid of Viruses and Supramolecular Peptide Fibers for Multidimensional Control of Patterning and Infection

著者 : Atsuya Yaguchi, Noriyuki Uchida, Daiki Miura, Go Watanabe, Hirotsugu Hiramatsu, Itsuki Ajioka, Teruhiko Matsubara, Toshinori Sato, Chinbat Enkhzaya, Shunto Itani, Tomokazu Saito, Takahiro Muraoka

*責任著者 内田紀之、村岡貴博

URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.202508528>

DOI : 10.1002/anie.202508528

概要: 東京農工大学大学院工学研究院の矢口敦也(博士後期課程修了)、同大学工学部 Chinbat Enkhzaya (学部卒業)、井谷駿斗(博士前期課程修了)、齋藤智一(博士前期課程修了)、同大学大学院工学研究院応用化学部門の内田紀之特任講師、村岡貴博教授、東京科学大学国際医工共創研究院脳統合機能研究センターの味岡逸樹教授、北里大学大学院理学研究科の三浦大輝(修士課程修了)、同大学未来工学部の渡辺豪教授、国立陽明交通大学の平松弘嗣副教授、慶應義塾大学理工学部の松原輝彦准教授、佐藤智典名誉教授の研究グループは、ウイルスと複合体を形成する光応答性ファイバーの開発に成功しました。

ウイルスは構造的周期性と表面設計可能性を特徴とする多様な形態を有するため、近年バイオマテリアルを設計する上で有用なモチーフとなっています。特に、ウイルスとポリマーの複合体は、遺伝子治療用の薬物キャリアや電子デバイス構築するためのビルディングブロックとして注目されています。本研究では光応答性のアゾベンゼン部位が導入された自己集合性ペプチド(A2Az)を開発しました。A2Az は、水中で螺旋状の超分子ファイバーへと自己集合し、ヒドロゲルを形成します。研究チームは、A2Az ファイバーが、その特徴的な螺旋構造の効果により、ウイルスと強く相互作用して複合体を形成することを見出しました。

また、A2Az ファイバーは、アゾベンゼン部位の光異性化により分解します。研究チームは、この光に応答した分解によって、A2Az と複合化したウイルスを系中に放出することを達成しました。これにより、光を利用した位置選択的な複合体の分解が、二次元基盤上でのウイルスパターンニングと、三次元ゲル中での空間選択的なウイルス感染の制御を可能にすることを明らかにしました。ウイルス/ポリマー複合体を用いた空間選択的なウイルスの固定と放出、ひいては感染制御に初めて成功した点が、本研究が達成したブレークスルーです。この成果は、ウイルスの高度な操作を可能にする基盤技術として学術的な意義があり、遺伝子治療や光学材料の設計など、ウイルスが関連する幅広い分野へ波及し、新材料の開発や応用研究につながると期待されます。

背景: ウイルスは、カプシドタンパク質^{注9)}の集合体として形成され、構造的周期性と表面設計可能性を特徴とする多様な形態を有するため、バイオマテリアルを設計する上で有用なモチーフとして、近年注目を集めています。特に、ウイルスとポリマーの複合体は、遺伝子治療用の薬物キャリアとしての医療応用だけでなく、リチウムイオン電池や圧電材料^{注10)}などの電子デバイス用構造材料を構築するためのビルディングブロックとして有用です。しかし、ウイルスとポリマーの強い多価相互作用により、空間選択的にウイルスを放出する動的制御は一般的に困難であり、特にウイルスを用いた機能性材料の設計に必要なパターンニングの手法は限定的でした。

研究体制: 本研究は、東京農工大学大学院工学研究院応用化学部門の村岡貴博教授、東京科学大学国際医工共創研究院脳統合機能研究センターの味岡逸樹教授、北里大学未来工学部の渡辺豪教授、慶應義塾大学の佐藤智典名誉教授、国立陽明交通大学の平松弘嗣副教授の研究グループが中心となって行われました。

本成果は、科学研究費助成事業 基盤研究 B(課題番号: JP25K01891、研究代表者:村岡貴博)、科学研究費助成事業 基盤研究 C(課題番号: JP23K04927、研究代表者:内田紀之)、科学研究費助成事業 学術変革領域研究(B)「遅延制御超分子化学」(課題番号: JP21H05096、研究代表者:村岡貴博)、科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業 CREST(課題番号: JPMJCR19S4、研究分担者:村岡貴博)、同 創発的研究支援事業(課題番号: JPMJFR2122、研究代表者:村岡貴博)、同 戦略的創造研究推進事業 ACT-X(課題番号: JPMJAX23DL、研究代表者:矢口敦也)、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO) 官民による若手研究者発掘支援事業(課題番号: 23W1M041、研究分担者:内田紀之)、キヤノン財団(村岡貴博)、旭硝子財団(村岡貴博、内田紀之)、新化学技術推進協会(内田紀之)、守谷育英会(内田紀之)、田中貴金属記念財団(内田紀之)、浦上食品・食文化振興財団(内田紀之)、コーセーコスメトロジー研究財団(内田紀之)、ロッテ財団(内田紀之)、豊田理化学研究所(内田紀之)の支援を受けて得られました。

研究の内容と成果: ウイルスと複合化すると共に、空間的なパターンニングを実現する材料として、光応答性のアゾベンゼン部位を含む自己集合性ペプチドに注目しました。自己集合性ペプチドファイバーが、アゾベンゼン部位の光異性化と連動して脱重合し、それによりウイルスを放出することができれば、感染などのウイルスの機能を位置選択的に制御することが可能になると期待しました(図 1a)。そこで、アゾベンゼン側鎖を有するアミノ酸残基を N 末端側から2残基目に含み、8 つのアミノ酸残基からなる自己集合性ペプチド(図

1b, A2Az;Ac-RAzDARADA-NH₂)を開発しました。また、比較分子として、アゾベンゼン部位が N 末端側から4残基目に配置されたペプチド(図 1b, A4Az;Ac-RADAzRADA-NH₂)やアゾベンゼン部位を含まない RADA16(図 1b, Ac-RADARADARADARADA-NH₂)も合成し、アゾベンゼン部位の有無や導入位置の影響を評価しました。

A2Az の自己集合挙動を分子動力学(MD)計算^{注11)}によって予想したところ、螺旋状のファイバーになることが示唆されました(図 2a)。実際、A2Azは水溶液中に分散させたところ、螺旋状の超分子ナノファイバーに自己集合していることが、原子間力顕微鏡(AFM)^{注12)}及び透過型電子顕微鏡(TEM)^{注13)}により明らかになりました(図 2c,d)。また、A4AzやRADA16を用いて同様の操作を行ったところ、非螺旋状のファイバーが観察され(図 2h)、アゾベンゼン部位の導入位置が螺旋形成に重要であることが明らかになりました。興味深いことに、螺旋状ファイバーを形成する A2Az ファイバーと、非螺旋状ファイバーを形成する A4Az を用いて基盤を作製し(図 2e,i)、ウイルスとの吸着特性を比較したところ、A2Az が、より強く吸着することを見出しました(図 2f,j)。様々な解析から、螺旋状ファイバーの方が表面の疎水性が高いことも示されたことから、疎水性効果がウイルスとの高い吸着性に寄与していることが考えられます。また、吸着した M13 ファージは感染性を維持しており、プラークアッセイ^{注14)}において M13 ファージが添加前と同様の感染力を示しました(図 2g,k)。

次に A2Az ファイバーの光応答性を調べるため、分散液に紫外光を照射したところ、ゲルからゾルへの相転移が誘導されました。この相転移において、ファイバーから粒子状の集合体へと構造変化していることが TEM によって確認され、アゾベンゼン部位の光異性化が A2Az ファイバーの分解を誘導しました。つまり、光刺激を利用した空間選択的な複合体の分解を利用することで、二次元、三次元環境における M13 ファージのパターニングが可能になりました。加えて、ガラス基盤上に吸着した M13 ファージ/A2Az ファイバーの一部をアルミホイルで被覆して特定の位置のみに紫外線光照射を行い、洗浄操作を行ったところ、光照射部位でのみ M13 ファージが吸着しました(図 3a-f)。また、光を絞って照射することで、基盤上にマイクロメートルスケールのパターニングを行うことにも成功しました(図 3g-j)。さらに、A2Az ゲル中に、M13 ファージとその宿主である大腸菌(*E. coli*)、感染を示すマーカーである SPiDER 色素^{注15)}を封入し、特定の空間にのみ紫外線を照射しました。その結果、光照射された空間でのみ SPiDER 色素の蛍光強度が増加し、M13 ファージの感染を空間選択的に制御できることを明らかにしました(図 3k-m)。

今後の展開:ウイルスの三次元パターニングは、遺伝子治療や光学材料の構築において有用です。本研究では、ウイルスと複合化する光応答性 A2Az ファイバーの開発に成功しました。A2Az におけるペプチドの側鎖に大きな芳香族基を付加する特徴的な分子設計は、螺旋状超分子ファイバーを作製する新たな設計指針を提供します。また、今回使用した M13 ファージは、特徴的な異方性形状と表面調整可能性に伴い、電子デバイス機能を有する表面などを調整することが可能です。そのため、二次元、三次元におけるパターニングが可能な M13 ファージ/A2Az ファイバー複合体は、様々な光学材料の設計に利用できます。また、M13 ファージは、*E. coli* だけでなく生細胞に対する遺伝子ベクターとして利用できることも近年明らかになっており、本研究で達成された技術が基盤となり、創薬開発に向けた空間選択的な遺伝子導入剤としての応用も期待されます。

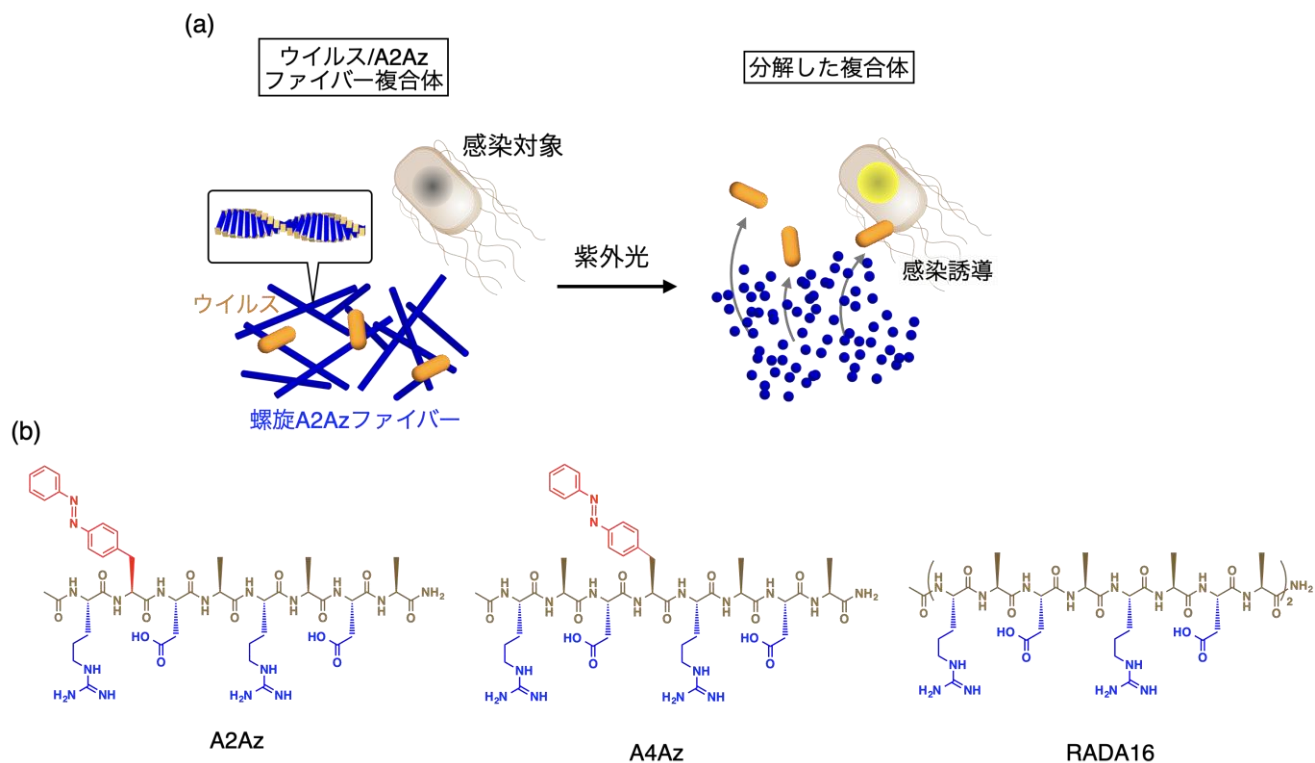


図 1 (a) A2Az 螺旋状ファイバーとウイルスの複合化と光による放出の概念図、(b) A2Az、A4Az、RADA16 の分子構造。発表論文より転載(一部改変)。

A2Az ファイバーは、その特徴的な螺旋構造からウイルスに対して強い相互作用を示し、複合体を形成する。その状態で紫外光を照射すると、ファイバーの脱重合によりウイルスが放出され、宿主である *E. coli* への遺伝子導入が促進される。

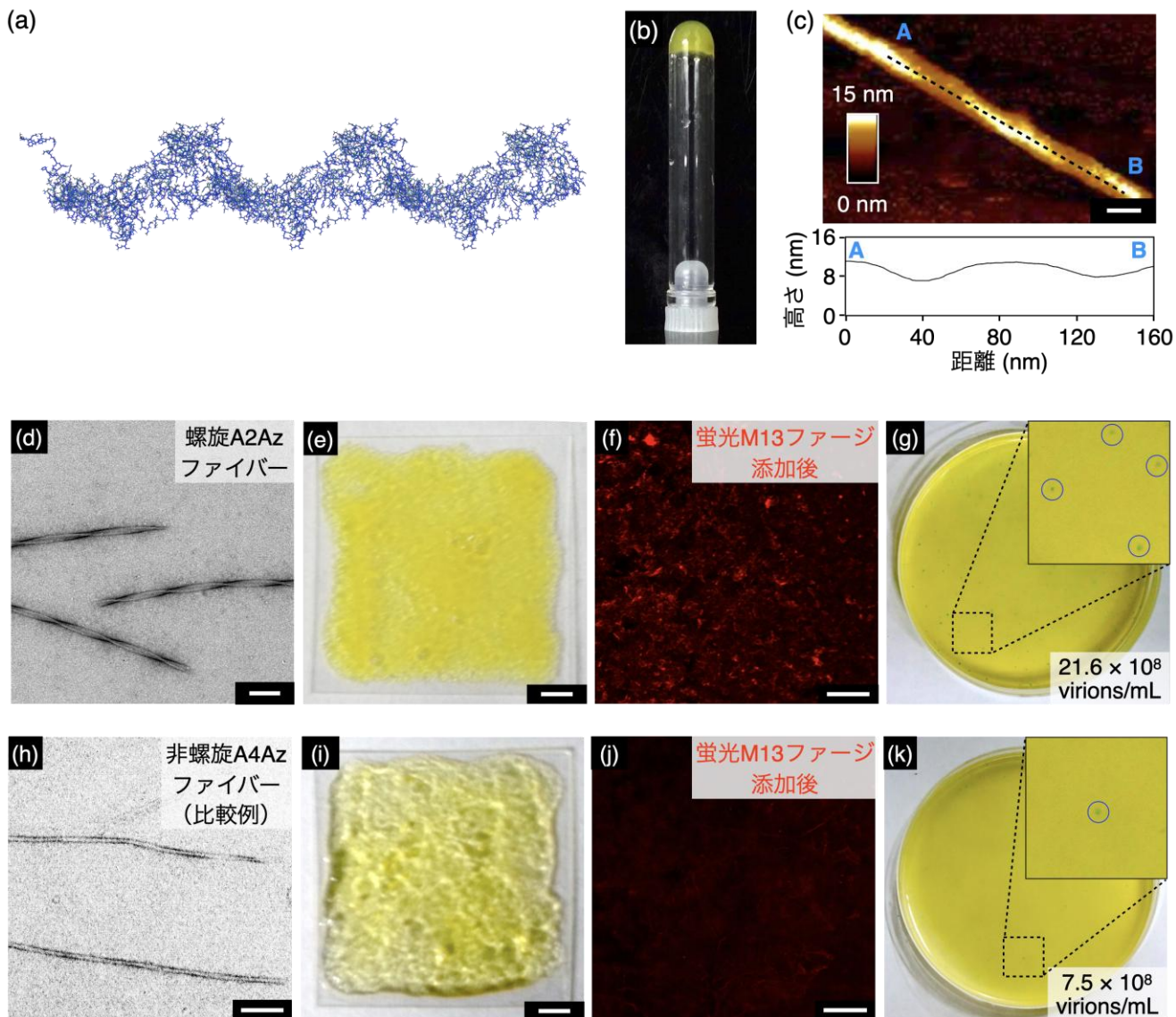


図 2 (a) A2Az ファイバーの MD シミュレーションスナップショット、(b) A2Az ファイバーからなるヒドロゲルの写真、(c) A2Az ファイバーの原子間力顕微鏡画像(スケールバー: 20 nm)。(d,h) 螺旋 A2Az ファイバー(d-g)と非螺旋の A4Az ファイバー(比較例, h-k)における透過型電子顕微鏡画像(スケールバー: 100 nm)、(e,i) 基盤に塗布したゲルの写真(スケールバー: 2 mm)、(f,j) ファイバー被覆基盤に対して蛍光性 M13 ファージを添加した際の共焦点顕微鏡画像(スケールバー: 100 μ m)、(g,k) 感染性を評価するプラークアッセイ。発表論文より転載(一部改変)。

A2Az ファイバーは、水中で螺旋状の超分子ファイバーを形成する(a-d)。この螺旋構造は、ウイルスと強く相互作用し、複合体を形成する上で有利な立体構造である。実際、螺旋状 A2Az ファイバーを塗布した基盤に、モデルウイルスとして蛍光性の M13 バクテリオファージを添加したところ、非螺旋状の A4Az ファイバー(h)と比較して、多くの M13 ファージが感染性を保持した状態で吸着した(e-k)。

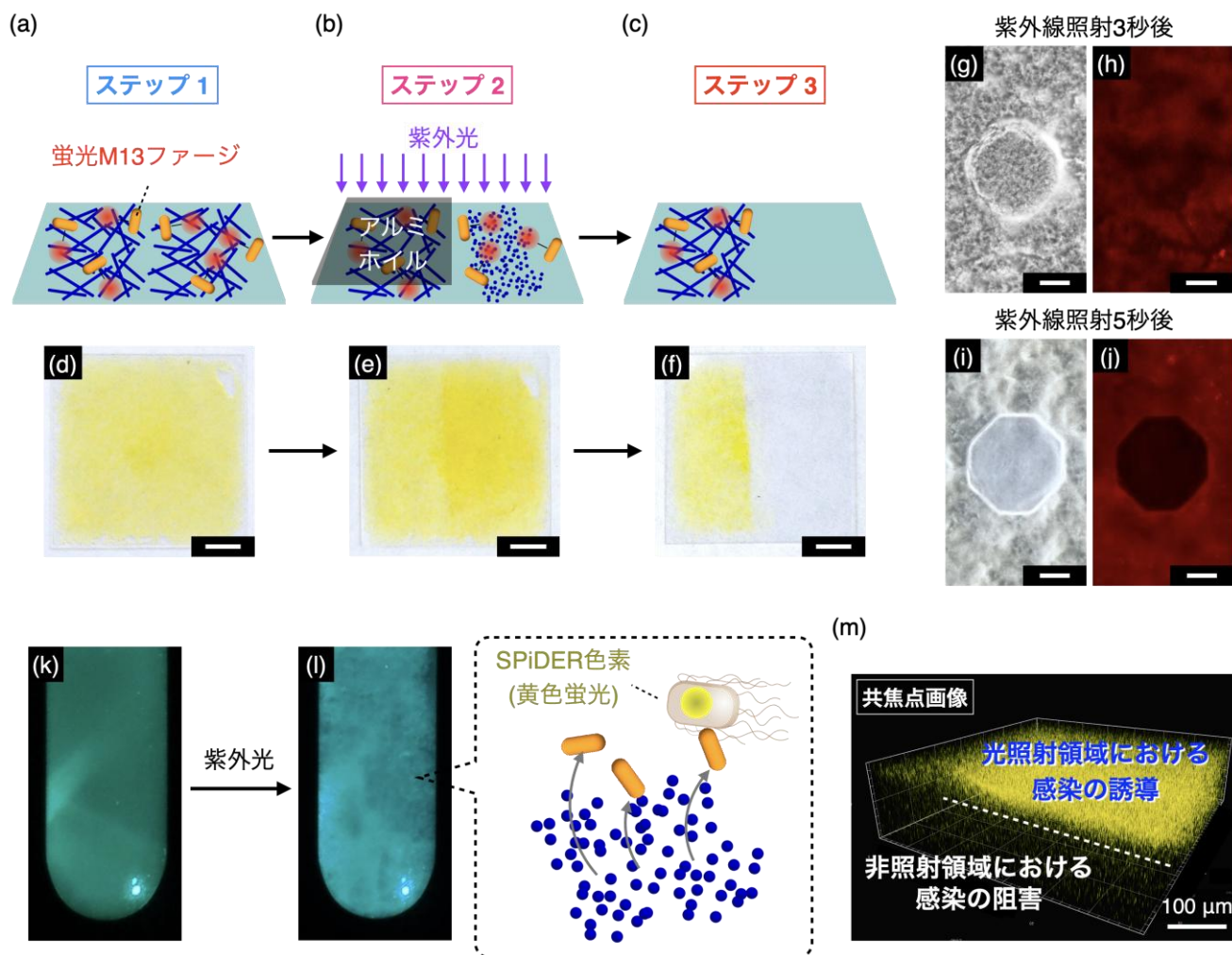


図 3 (a-c) 蛍光 M13 ファージ/A2Az コーティングガラス基板における光選択的解離の模式図。ステップ 1: M13 ファージ Cy5 が A2Az コーティングされたガラス基板に付着する(a)、ステップ 2: アルミホイルで半分マスクされた蛍光 M13 ファージ付着ガラス基板に紫外光を照射する(b)、ステップ 3: ガラス基板上の蛍光 M13 ファージを洗浄する(c)。(d-f) ステップ 1(d)、ステップ 2(e)、およびステップ 3(f)におけるガラス基板の写真。(g-j) M13 ファージが吸着したガラス基板に対する紫外線照射後 3 秒(g,h)、および 5 秒(i,j)における位相差顕微鏡(g,i)と共焦点顕微鏡画像(h,j)。(k,l) M13 ファージ、*E. coli*、および SPiDER-βGal を含有する A2Az ハイドロゲルを紫外光照射前後(波長 350 nm, 照射時間 30 秒)において 500 nm の励起光下で撮影した写真。(m) 光を利用して位置選択的に感染誘導した際の共焦点顕微鏡画像。発表論文より転載(一部改変)。

A2Az ファイバーを介して基盤に吸着した蛍光 M13 ファージは、紫外線照射による A2Az ファイバーの分解により溶液中に放出される(a-f)。光を利用しているため、マイクロメートルスケールで位置選択的な放出制御が可能である(g-j)。さらに、三次元的な A2Az ゲル中に、M13 ファージとその感染対象である *E. coli*、感染を示すマーカーである SPiDER 色素を封入し、紫外線を照射すると、光刺激により SPiDER 色素の蛍光強度が増加し、M13 ファージの感染が空間選択的に光誘導されていることが示された(k-m)。

用語解説:

注1) 遺伝子導入剤

遺伝子治療や遺伝子組換え実験において、目的の遺伝子を細胞内に導入するために用いられる試薬の総称。

注2) 光学ナノ材料

ナノメートルスケール(1~100 nm 程度)の構造や粒子サイズを持ち、光との相互作用に特殊な性質を示す材料。これらの材料は、通常の光学材料にはない量子効果や表面効果、局所電磁場の増強などの特性を利用できるため、次世代の光学デバイスやセンシング技術で注目されている。

注3) M13 バクテリオファージウイルス

細菌(特に *E. coli* = 大腸菌)に感染する一本鎖 DNA(ssDNA)を持つ細長いウイルスであり、ファージディスプレイ(ファージの表面に、他の分子と相互作用できるペプチドを提示する技術)、クローニング、DNA シーケンシング、ナノテクノロジー材料の設計にしばしば利用される。

注4) 自己集合性ペプチド

溶液中で自発的に集合し、特定の秩序的な構造を形成するペプチド。特に本研究では、水溶液中でファイバー状に集合するペプチドを指す。

注5) ウイルスパターニング手法

ウイルスの活性を保持したまま特定の位置へ固定・配置し、さらにその配置する形状を加工する技術。

注6) 超分子ファイバー

分子が非共有結合で一次元状に集合して形成される繊維状の構造体。このようなファイバーは、自己組織化によって形成され、柔軟性・動的特性・刺激応答性を持つ。

注7) ヒドロゲル

水を多く含みながら、三次元網目構造を持つ高分子ゲル材料。

注8) 光異性化

同じ分子式を持つ化合物が、原子の配置や構造を変えることで、異なる構造(異性体)に変化する化学反応のことを異性化という。特に、光照射に応答して起こる異性化のことを、光異性化という。

注9) カプシドタンパク質

ウイルス粒子の外殻を構成する主要なタンパク質。これらのタンパク質が集合して、カプシドと呼ばれるウイルスの「殻」を形成し、ウイルスの遺伝情報(DNA または RNA)を保護・輸送する役割を担う。

注10) 圧電材料

力を加えると電圧を発生する性質(圧電効果)を持つ材料。

注11) 分子動力学(MD)計算

力学法則に基づき、原子の位置や速度の時間変化を追跡することで、物質の構造・性質・変化を計算し、分子や原子の運動をコンピューター上で再現するシミュレーション手法。

注12) 原子間力顕微鏡(AFM)

カンチレバーと呼ばれる微小な針の先端と試料表面の間に働く原子間力を利用して、試料表面の形状や性質をナノメートルレベルの分解能で観察する顕微鏡。

注13) 透過型電子顕微鏡(TEM)

電子線を試料に照射し、透過した電子をレンズで拡大して観察する顕微鏡。

注14) プラークアッセイ

細胞培養液中のウイルスを、特定の細胞に感染させ、プラークと呼ばれる透明な領域の数を数えることで、感染性ウイルスを定量する手法。

注15) SPiDER 色素

高感度・高選択性を持つ蛍光プローブの一種で、細胞内や組織内での β -ガラクトシダーゼ酵素活性や代謝物の検出に利用される。特に、細胞膜透過性が高く、かつ酵素活性依存的に細胞内にとどまるという特性を持っており、従来の蛍光色素に比べて背景ノイズが少なく、高コントラストなイメージングが可能。

◆研究に関する問い合わせ◆

東京農工大学 大学院工学研究院
応用化学部門 教授
村岡 貴博（むらおか たかひろ）
〒184-8588 東京都小金井市中町 2-24-16
TEL: 042-388-7052
E-mail: muraoka@go.tuat.ac.jp

◆報道に関する問い合わせ◆

東京農工大学 総務課広報室
TEL: 042-367-5930
E-mail: koho2@cc.tuat.ac.jp

科学技術振興機構 広報課
TEL: 03-5214-8404
E-mail: jstkoho@jst.go.jp

◆JST 事業に関する問い合わせ◆

科学技術振興機構 創発的研究推進部
加藤 豪（かとう ごう）
TEL: 03-5214-7276
E-mail: souhatsu-inquiry@jst.go.jp