

# 生物由来繊維状タンパク質の 相分離及び相転移による構造化制御

SATテクノロジー・ショーケース2025

## ■ はじめに

生体が備える特徴的な機能から着想を得たバイオインスパイアード材料の開発は盛んに行われている。我々は、現存する最古の深海生物の一種であるHagfishが有する外的刺激に応答して繊維タンパク質を放出するという生体防御機能に着目し、バイオメテイクスの有用なモデルとして見出した。この繊維タンパク質は中間径フィラメント (intermediate filament; IF) ファミリーに属するタンパク質で構成されており、優れた機械的特性、生分解性を有している事から石油非依存かつ環境志向の繊維材料としての応用が期待される。

しかしながら、Hagfishの生体内においてどのような機構に従いIFタンパク質が繊維構造化しているのかは未解明の問題である。従って Hagfish IFタンパク質の自己組織化動態を調査することは、生体内におけるIFタンパク質の構造化機構の解明、更には新たなバイオマテリアルの開発に繋がると考えている。

そこで我々はHagfish生体からネイティブIFタンパク質を抽出し、構造特性を解析した。更に、IFタンパク質が構造化される細胞内の環境特性を考慮した分子クラウディング条件下における自己組織化動態を調査する事で、構造化機構を検討した。

## ■ 活動内容

### 1. Hagfish IFタンパク質の精製及び構造特性解析

Hagfish生体から抽出液を抽出し、精製プロセスを経ることにより目的とするIFタンパク質の高純度回収を達成した。回収したIFタンパク質の1次配列をもとにバイオインフォマティクス解析を行ったところ、配列内に低複雑性領域という非構造領域が保存されている事を確認した。低複雑性領域は細胞内における液液相分離の発生と関連深い事が報告されている。Hagfish IFタンパク質も細胞内分泌型タンパクである為、細胞内環境模倣系内での構造化制御と液液相分離との関連性を見出した。

### 2. 分子クラウディング環境下における構造化動態

細胞内における分子クラウディング環境を模倣するために、リン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.4) にモデルポリマーであるデキストラン (DEX) 及びNaClを溶解し、そこにモノマー化したIFタンパク質溶液を添加する事により、実験系を構築した。観察の結果、共存因子の各成分の影響による凝集動態の変化を主に3つのTypeに分類可能なことが明らかとなった。

### ● 塩析効果による沈殿形成 (Type I)

系内における共存因子として電解質のみを添加した条件では、Type IIに分類される凝集挙動を示すことが確認された。この場合、異なる性質を有する3種の電解質 (NaSCN, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) を用いてホフマイスター効果を検討したが、いずれも同様の沈殿物を形成した。従って、電解質は塩析効果によりIFタンパク質の沈殿形成を促進する働きがあると推測された。

### ● 液液相分離によるコアセルベート形成 (Type II)

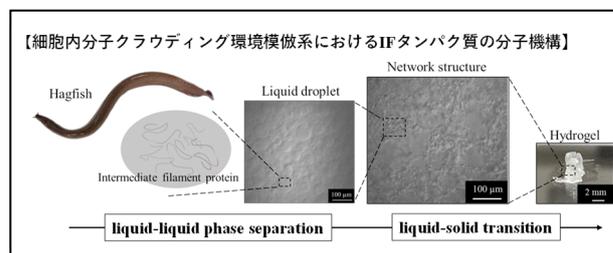
系内における共存因子としてポリマー (DEX) のみを所定濃度添加した条件では、共存分子からの排除体積効果等の分子クラウディング効果によりIFタンパク質が豊富に集約されたコアセルベートを形成する事が確認された。

### ● 液固相転移によるハイドロゲル形成 (Type III)

細胞内を模倣した電解質及びポリマーの両者が所定濃度共存する系内においては、液液相分離によるコアセルベートを形成した後、液固相転移を生じてゲル化したコアセルベート同士の連結によりネットワークが形成され、成熟プロセスを経る事により立体的なハイドロゲルを形成する事が確認された。

### 3. 液固相転移により形成されたハイドロゲルの物性評価

コアセルベート同士の融合挙動等の液体的な性質を保っていた系内におけるハイドロゲル化の進行は、系内の濁度及び粘度をモニタリングする事によって定量的に示された。また、ゲル化に伴うIFタンパク質の二次構造はβシートリッチな状態へとなり、線維構造に特徴的なクロスβ相互作用を主としてネットワーク構造が形成されることを示した。また、走査型電子顕微鏡観察による形態的特性及び動的粘弾性測定による機械的特性からもハイドロゲル形成が確認され、細胞内における固体構造化が相分離や相転移挙動により制御されている可能性を見出した。



代表発表者 **小林 龍輝 (こばやし りゅうき)**  
 所属 **山形大学大学院 理工学研究科 理学専攻 並河研究室**  
 問合せ先 **〒990-8560 山形県山形市小白川町 1-4-12  
 TEL: 023-628-4589  
 Mail: nabika@sci.kj.yamagata-u.ac.jp**

■ キーワード: (1) 中間径フィラメントタンパク質  
 (2) 液液相分離  
 (3) 液固相転移

■ 共同研究者: 並河英紀<sup>1</sup>、渡邊康紀<sup>1</sup>、宮瑾<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>山形大学理学部  
<sup>2</sup>山形大学大学院有機材料システム研究科