

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	グラフェン電気化学界面におけるペプチド2次元結晶を介した信号伝達機構の解明
Title(English)	Signal Transduction Mechanism via Peptide 2D Crystals at the Graphene Electrochemical Interface
著者(和文)	本間千柊
Author(English)	Chishu Honma
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12721号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:早水 裕平,松本 英俊,大内 幸雄,道信 剛志,VACHA MARTIN,大河内 美奈
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12721号, Conferred date:2024/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

### THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	材料 材料	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	本間 千柊		審査員主査： Chief Examiner	早水 裕平

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

典型的な 2 次元材料であるグラフェンは、優れた電子特性と高い比表面積を有しており、導電性を制御することで微細な環境変化を感知することができる。そのため、グラフェンは、電界効果トランジスタ (GFET) 型のバイオセンサにおける活性電極材料としての応用が期待されている。トランジスタ型のグラフェンバイオセンサは、表面プラズモン共鳴や水晶マイクロバランスといった従来のバイオセンシング・プラットフォームと比較して高い感度を示すが、任意の標的分子に対する選択性を同時に達成することは依然として困難である。そのため、これらのバイオセンサにバイオプローブを固定化することは、界面を機能化し、特定の標的分子を選択的に検出するために不可欠な要素である。バイオプローブの非共有結合的官能基化や物理的吸着は、バイオセンシングのためのグラフェン官能基化法として広く受け入れられているが、プローブの配向や位置に応じて活性や選択性を維持するという課題がある。そこで、バイオプローブをグラフェン表面に固定化するための分子足場として、自己組織化ペプチドが新たな候補として挙げられた。ペプチドは、グラフェンの結晶構造を認識し、自発的に結晶性を有する均一な単層厚膜を形成することが見出された。グラフェン表面上で規則正しい構造に自己組織化するペプチドの特性は、近年、グラフェンバイオセンサのための非常に効率的な分子足場として注目されている。さらに、これらの自己組織化構造は、電気化学的界面においても非常に安定であることが知られている。

従来の研究では、自己組織化ペプチドは均一で不変な構造として扱われ、吸着する物質質量に比例して電気信号が出力されると考えられている。実際には、ペプチドは局所的な構造を持っており、標的分子の吸着に伴い、界面環境を変化させていることは確かである。例えば、ペプチド表面のイオンの分布が変化し、分子吸着に伴ってバイオプローブの構造が変化し、などの要素が考えられる。このように、センサの信号伝達は界面のイオンや分子構造の状態が非常に重要な鍵となっているが、それらの構造を分子レベルで理解し、かつグラフェンとの電子的相互作用を包括的に理解した研究はこれまでになされていないのが現状である。

本博士論文は、トランジスタ型グラフェンバイオセンサの感度・選択性のさらなる向上に向けた、信号伝達界面のペプチドの構造と機能を結びつける新たな理論の提唱と、センサ機能の実証を目的とした。戦略として、超高解像表面計測・分子動力学シミュレーション、トランジスタ精密電気計測、そして多変量解析による信号処理、以上 4 つの技術を統合することで、界面の信号伝達機構の分子レベルでの理解と、自己組織化ペプチドを分子足場として用いたトランジスタ型バイオセンサの分子検出能の評価を試みた。

第 2 章では、界面の分子結晶構造とその機能を単一分子レベルで理解することを試みた。合理的に設計されたペプチドは、電極界面で自発的に規則正しい構造を形成し、アミノ酸配列設計によってその構造を変調可能である。また、アミノ酸配列の違いが電子的相互作用を変調することも過去の研究で明らかにされている。この章は、以下の 4 つの項目で構成される。まず、超高解像表面観察技術を利用して単一分子スケールでペプチドの構造を観察する。次に、得られた構造情報を基に MD 計算を実行し、分子間の相互作用や配向などの時間平均情報を取得する。その後、GFET を用いてペプチド吸着に伴うグラフェンの電気伝導特性への影響を調査する。最後に、古典的な電気化学モデルを用いて実測データの再現を行い、センサ機能を決定づける電気化学パラメータの理解を深める。これらの技術を組み合わせることで、構造と機能の相関を明らかにし、信号伝達機構を理解することを目標とした。結果として、ペプチドの自己組織化構造を単一分子レベルで液中観察することに成功した。さらに、その構造をもとに MD 計算を実行した結果、電荷を持つ官能基の配向とペプチド膜の電荷応答に相関があることを明らかにした。

第 3 章では、第 2 章のペプチドの配列をもとに分子足場を設計し、バイオプローブを用いたバイオセンサとしての機能の検証を行う。まず、設計したペプチドの分子足場が自己組織化して形成する均一で安定した分子膜の観察を行い、その構造の確認をする。その後、ペプチド結晶構造の形成に伴うグラフェンの電気特性の変化を計測し、センサとしての機能が十分に担保されているかを確認する。結果として、設計したペプチド膜を修飾した GFET は標的分子に対して pM オーダーの高い感度を有することが明らかになった。また、匂い分子の吸着・脱離に伴う電気伝導度のダイナミクスを 3 種類の匂い分子で計測し、その信号形状を表す量を入力パラメータとした主成分分析を行った。その結果、バイオプローブのアミノ酸配列を変えることで、種々の匂い分子に対する識別能を制御可能であることを明らかにした。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800

Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。  
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of Graduate major in	材料 材料	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	本間 千柊		審査員主査： Chief Examiner	

### 要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Graphene, a typical two-dimensional material, has excellent electronic properties and high specific surface area, and can sense minute environmental changes by controlling its conductivity. Therefore, graphene is expected to be applied as an active electrode material in field-effect transistor (GFET)-type biosensors. Transistor-based graphene biosensors exhibit higher sensitivity than conventional biosensing platforms such as surface plasmon resonance and quartz crystal microbalance, but it is still difficult to simultaneously achieve selectivity for any target molecule. Therefore, the immobilization of bio-probes on these biosensors is an essential element to functionalize the interface and selectively detect specific target molecules. Non-covalent functionalization or physical adsorption of bio-probes has been widely accepted as a graphene functionalization method for biosensing, but there are challenges in maintaining activity and selectivity depending on probe orientation and position. Therefore, self-assembling peptides were identified as new candidates for molecular scaffolds to immobilize bio-probes on graphene surfaces. Peptides were found to recognize the crystalline structure of graphene and spontaneously form a uniform monolayer of thick film with crystalline properties. The property of peptides to self-assemble into ordered structures on graphene surfaces has recently attracted much attention as a highly efficient molecular scaffold for graphene biosensors. Moreover, these self-assembled structures are known to be very stable at electrochemical interfaces.

In previous studies, self-assembling peptides have been treated as homogeneous and invariant structures, and their electrical signal output is proportional to the amount of adsorbed substance. It is certain that peptides have a local structure and change their interfacial environment as they adsorb target molecules. For example, the distribution of ions on the peptide surface changes, the structure of the bio-probe changes with molecule adsorption, and other factors are possible. Thus, the state of the ionic and molecular structures at the interface is very key to the signal transduction of the sensor, but there has been no research to understand their structures at the molecular level and their electronic interactions with graphene in a comprehensive manner.

The purpose of this doctoral thesis was to propose a new theory linking the structure and function of peptides at the signal transduction interface and to demonstrate the sensor function to further improve the sensitivity and selectivity of graphene biosensors. By integrating the above four technologies, ultra-high-resolution surface measurement, molecular dynamics simulation, transistor precision electrical measurement, and signal processing by multivariate analysis, we attempted to understand the signal transduction mechanism of the interface at the molecular level and to evaluate the molecular detection ability of the transistor-based biosensor using self-assembled peptides as a molecular scaffold. We also attempted to evaluate the molecular detection ability of transistor-based biosensors using self-assembling peptides as molecular scaffolds.

In Chapter 2, we attempted to understand the molecular crystal structure of the interface and its function at the single molecule level. Rationally designed peptides spontaneously form ordered structures at the electrode interface, which can be modulated by the amino acid sequence design. It has also been shown in previous studies that differences in the amino acid sequence modulate the electronic interactions. This chapter consists of the following four sections. First, the structure of peptides is observed at the single molecule scale by using the super-resolution surface observation technique. Next, based on the obtained structural information, MD calculations are performed to obtain time-averaged information on intermolecular interactions and orientations. Subsequently, we investigate the effect of peptide adsorption on the electrical conduction properties of graphene using GFET. Finally, classical electrochemical models are used to reproduce the measured data to better understand the electrochemical parameters that determine the sensor function. By combining these techniques, our goal is to elucidate the correlation between structure and function,

and to understand the signal transduction mechanism. As a result, we have succeeded in observing the self-assembled structure of peptides at the single molecule level in liquid. Furthermore, MD calculations based on the structure revealed that there is a correlation between the orientation of the charged functional groups and the charge response of the peptide membrane.

In Chapter 3, we design a molecular scaffold based on the peptide sequences in Chapter 2, and verify its function as a biosensor using bio-probes. First, we observe the uniform and stable molecular membrane formed by the self-assembly of the designed peptide molecular scaffolds and confirm its structure. Then, we measure the changes in the electrical properties of graphene due to the formation of the peptide crystal structure and confirm that the sensor function is sufficiently secured. As a result, it is found that the designed GFETs modified with the peptide films have high sensitivity on the order of pM to the target molecules. In addition, we measured the dynamics of electrical conductivity during adsorption and desorption of odorant molecules with three different odorant molecules and performed principal component analysis using the quantity representing the shape of the signal as an input parameter. As a result, it was revealed that the discriminative ability against various odor molecules can be controlled by changing the amino acid sequence of the bio-probe.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).