JAIST Repository
https://dspace.jaist.ac.jp/

Title	ファージ提示系によるタンパク質の特異的部位を認識するペプチドの選択
Author(s)	石川，英夫
Citation	
Issue Date	2000-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2661
Rights	
Description	Supervisor:横山 憲二，材料科学研究科，修士

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY

Japan Advanced Institute of Science and Technology

B21p5

ファージ提示系によるタンパク質の特異的部位を認識するペプチドの選択

石川 英夫（横山研究室）

【 目的 】

近年、コンビナントリアルケミストリー技術の発展とともに、合成ペプチドを分子認識素子として用いる研究が行われている。本研究では、ファージ提示系ペプチドライブラリーを利用してグルコースオキシダーゼ (GOx)表面の特異的部位を認識する分子認識ペプチドをスクリーニングした。さらに、得られたペプチドを表面プラズモン共鳴装置（ SPR ）を用いて親和性を調べた。

【 実験と結果 】

○親和性を持つペプチドのスクリーニング

GOx 表面の、活性部位近傍に存在するアミノ配列 (^{52}G-S-Y-E-A-D-^{58}R) をターゲットとしこのペプチドを固相法により合成した。合成したペプチドに対し、ファージ提示系のペプチドライブラリーを用いてバイオパニングを行い、親和性の高いと考えられるファージクローンを得た。また、ファージクローンが提示しているアミノ酸配列は DNA シークエンサーを用いて決定した。その結果、ペプチド（G-S-Y-E-A-D-R）に親和性を持つ 13 種のペプチド配列を得た。この 13 種のアミノ酸配列は大きく 4 系統に分けることができ、配列の特徴として塩基性アミノ酸が多く見られることが挙げられる (Table 1)。

○スクリーニングにより得られたペプチドの親和性測定

SPR のセンサーチップにペプチド（G-S-Y-E-A-D-R)、GOx、ガラクトースオシキダーゼ（陰性コントロール）をそれぞれ固定化し、スクリーニングより得られたペプチドとの親和性を調べた。その結果、これらのペプチドは、GOx に対して特異的に結合することが示唆された。

NO.	ペプチド配列																			
1				H	P	M	N	M	H	R	H	G	Y	I	Y					
②									F	H	S	G	S	M	Y	N	I	V	P	T
3				Q	I	P	L	M	K	G	P	G	Y	M	Y					
4					H	P	P	M	D	F	H	K	A	M	T	R				
5					D	P	P	T	V	L	P	K	L	A	Y	R				
6	I	G	F	P	W	E	R	P	W	I	S	P								
⑦							A	P	W	P	S	P	T	H	Y	L	K	D		
8				H	S	Y	S	Q	T	Q	E	F	R	V	W					
9			Y	P	H	Y	S	Q	P	L	Y	W	R	Q						
10		H	H	S	A	Y	T	Q	T	H	W	T	R							

Table.1　スクリーニングより得られたアミノ酸配列の一部

配列 2,7 は左側が C 末端、他の配列は右側が N 末端

Keyword: ファージ提示系、グルコースオキシダーゼ、表面プラズモン共鳴、ペプチド、分子認識