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

Title	グルコースオキシダーゼを認識するハイブリッドペプチドの設計
Author(s)	坂井，俊文
Citation	
Issue Date	2001-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2790
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

B19p2

グルコースオキシダーゼを認識するハイブリッドペプチドの設計

坂井俊文　（横山研究室）

【目的】

近年、ペプチドライブラリーを用いてスクリーニングしたペプチドを、分子認識材料や人工抗体として用いる研究が盛んに行われている。当研究室では、グルコースオキシダーゼ(GOx)の特異的部位N末端から52-58番目(G-S-Y-E-S-D-R)と197-203番目（G-V-P-T-K-K-D）に特異的に結合する12merからなるペプチドを、市販のファージ提示系ランダムペプチドライブラリー（New England BioLabs製）を用いてスクリーニングを行った。しかし、1ヶ所のみによる結合では、最高の親和性を示したペプチドの解離定数K_Dでおよそ10^{-5}Mであり、十分に高い親和性が得られなかった。そこで、得られたペプチド配列を、様々な長さのリンカーで繋ぐことにより、一つの部位のみを特異的に認識するペプチドでは得られないような親和性の高いペプチドを得ることを目的とする。

【実験】

GOxの197-203番目の配列を部位特異的に認識するペプチドを得るために、G-V-P-T-K-K-D-resinを固相合成し、このペプチドを用いて、ファージ提示系によるスクリーニングを行った。次にスクリーニングによって得られたペプチドとGOxの解離定数K_Dを表面プラズモン共鳴装置（SPR）を用いて決定した。次に今回の目的であるGOxの特異的部位を認識し、かつ高い親和性を示すハイブリッドペプチドの設計を行った。すなわち、52-58番目の配列に部位特異的に結合する12merペプチド1（HPPMDFHKAMTR)と、197-203番目の配列の中で、最高の親和性を示したペプチドA(CHPQPLKSRNPL)を、リンカーを介して結合させ、ハイブリッドペプチドとした。

【結果】

スクリーニングによって5種類のペプチドが得られた。次にGOxを固定化して親和性をはかったところ、一番高い親和性を示した配列(ペプチドA)の解離定数K_Dは、2.4×10^{-5}Mであった。次にGOx上の2ヶ所の認識部位を同時に認識するハイブリッドペプチドを設計し検討を行ったところ、リンカーの長さが3残基でかつ、側鎖の立体障害が比較的大きいと思われるHFHの配列で構成されているハイブリッドペプチドが一番大きな親和性を示し、親和定数K_Dは、2.8×10^{-6}Mとなった。これによりハイブリッドペプチドを構成することで、親和性の上昇がみられることが明らかとなった。

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装置、ハイブリッドペプチド、分子認識