

Title	ファージ提示系環状ペプチドライブラリーの構築とスクリーニング
Author(s)	吉野, 里美
Citation	
Issue Date	2003-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/3021
Rights	
Description	Supervisor:横山 憲二, 材料科学研究科, 修士

【目的】

近年、抗体に変わる分子認識素子として、ペプチドが注目されている。ペプチドは、数～数十 mer のアミノ酸からなる生体関連分子であり、固相合成法の開発により容易に合成でき、設計も自由に行なうことができる。また、抗体の分子認識領域は、超可変部位と呼ばれる数残基のアミノ酸からなるため、ペプチドを分子認識材料として用いる研究が盛んに行われている。さらに、直鎖状ペプチドより環状ペプチドの分子認識能が高いとの報告例が数多くあり、当研究室においても、リン酸化 STAT3(Signal transducer and activator of transcription3)のリン酸化部位にアフィニティーを示す環状ペプチドの取得に成功している。STAT3 は 704 番目のチロシンがリン酸化されることで二量体を形成し、核内に入り、さらにリン酸化されることで DNA に結合し転写を制御する因子である。このように、生体情報伝達はリン酸化を介して行われているが、STAT3 においては核内輸送過程での情報伝達に未解明な部分が多いのが現状である。そのため、リン酸化部位を特異的に認識するペプチドは、シグナル伝達のモニタリングに有用であると考えられる。そこで、本研究では両末端にシステインを持つペプチドを提示するファージ提示系ライブラリーを作製した。システインのジスルフィド結合により、提示ペプチドを環状にすることで、より強く STAT3 のリン酸化部位を認識するペプチドのスクリーニングを試みた。

【実験方法】

12mer 環状ペプチドを示す DNA ライブラリーを設計し、T7Select10-3b ベクター (Novagen 社製) に組み込むことで、12mer ランダムペプチド、HSLRXDWXXPPXP、KVVWXXXPPPXXR (X=ランダムアミノ酸) を提示する 3 種類のファージライブラリーを構築した。これら後 2 種のペプチド配列は、これまでにスクリーニングにより得られているペプチド配列の一部をランダム化したものである。また、これらの配列の両側にシステインを導入し、12mer ペプチドの環状化を行った。次に STAT3 のリン酸化部位の配列をもとに 12 残基のペプチドを固相上に合成し、これを認識して結合するペプチドのスクリーニングを行った。

【結果と考察】

12mer ランダムペプチド、HSLRXDWXXPPXP、KVVWXXXPPPXXR を提示するファージライブラリーはそれぞれ、 3.0×10^3 pfu/ml、 1.8×10^4 pfu/ml、 1.5×10^5 pfu/ml のファージライブラリーが得られた。これら環状ペプチドを提示するファージライブラリーを用いて、STAT3 のリン酸化部位を認識して結合するペプチドを提示するファージをスクリーニングした。これらのペプチドをコードする遺伝子の DNA シークエンスを行い、STAT3 のリン酸化部位を認識して結合するペプチドのアミノ酸配列を得た。

Keyword 環状ペプチド ファージ提示系 分子認識 STAT3