

## Ni(II)-NTA 修飾ペプチドを提示したファージライブラリの構築と His タグ融合蛋白質に対するリガンドスクリーニング

(東工大生命理工) ○瀬古 健太・笥 翔太・三木 卓幸・堤 浩・三原 久和

Construction of a Ni(II)-NTA Modified Peptide Displayed Phage Library and Screening of Ligands for His-tagged Proteins (*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*) ○Kenta Seko, Shota Kakehi, Takayuki Miki, Hiroshi Tsutsumi, Hisakazu Mihara

Phage display is an effective method in selection of peptide ligands that bind specifically to target molecules from peptide libraries. Generally, the method is performed in the test tube, where purified target molecules were immobilized. However, this method is difficult to apply to targets that are difficult to be isolated or whose structure changes upon isolation. Therefore, we devised "Tag-assisted phage display method" using the interaction between a metal complex and His-tag. We expect that by chemical conjugation of Ni(II)-NTA complex with phages, selection against a His-tagged protein can be achieved without isolation. In this study, we developed and evaluated this method *in vitro* selection against purified proteins. First, we synthesized a NTA derivative, NTA-dBrAc, as a metal complex and established the conditions for the chemical modification of the phage library. Furthermore, we applied this method to target the purified protein human Double Minute 2 (hDM2) fused with His-tag.

**Keywords :** *Phage Display, Peptide Library, Ni(II)-NTA, His-tagged Protein, Screening*

ファージディスプレイ法はペプチドライブラリから標的分子に対して特異的に結合するペプチドリガンドを探索するのに非常に有効である。一般的に、ファージディスプレイ法は、精製した標的分子を固定化しペプチドを探索する。しかし、単離が困難な蛋白質や、単離によって構造が変化する蛋白質に対しては適応が困難である。そこで、我々は金属錯体と His タグの相互作用を利用した”Tag-assisted ファージディスプレイ法”を考案した。ファージのランダム部位近傍に Ni(II)-NTA を化学修飾することで、単離・精製することなく His タグ融合蛋白質を標的として選択的にペプチドを探索できると考えた。

本研究では、精製蛋白質を用いた *in vitro* での検討により、この手法の開発と有効性を評価した。まず、金属錯体として NTA 誘導体 NTA-dBrAc を合成し、ファージライブラリに修飾する条件を確立した。さらに、Ni(II)-NTA 修飾ファージライブラリを用いて、His タグを融合した精製蛋白質 human Double Minute 2 (hDM2) を標的にして本手法を適用した。