

蛍光修飾 α ヘリックス設計ペプチドを提示したファージライブラリによる galectin-3 検出蛍光バイオセンサーの探索

(東工大生命理工) ○橋本 匡浩・三木 卓幸・Iou Ven Chang・堤 浩・三原 久和
 Selection of Fluorescent Biosensors against Galectin-3 from a Phage Library Displaying Fluorescent Modified Designed α -Helical Peptides (*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*) ○Masahiro Hashimoto, Takayuki Miki, Chang Iou Ven, Hiroshi Tsutsumi, Hisakazu Mihara

Fluorescent biosensors are essential tools for detection of target molecules. In general, fluorescent biosensors are constructed by modifying ligands with fluorescent dyes. However, the conventional method requires laborious optimization of the probe modification site. As an efficient method, we developed a selection of fluorescent biosensors from a phage library displaying fluorophore-modified peptides. The peptide libraries are designed to form an α -helix structure, and the cysteine residue which is the fluorescent nitrobenzoxadiazole (NBD) conjugation site, is placed on the same face of the helix as the four randomized residues (Fig 1). After 5 rounds of selection, we obtained NBD-modified peptides that selectively bind to galectin-3 (Gal-3), a target protein. The fluorescent intensity of the hit peptides increased with the concentration of Gal-3, and the fluorescent responses were visually observed.

Keywords: *Phage display; Fluorescent modified peptide library; Fluorescent biosensor; Galectin-3; α -Helix*

蛍光バイオセンサーは、標的分子を検出するために用いられる重要なツールである。一般的に蛍光バイオセンサーは、標的分子のリガンドに蛍光色素を修飾することで構築される。しかし、この構築方法は蛍光色素の修飾部位の最適化が必要であり、合理的でない。本研究では、バイオセンサーの効率的な構築法として、蛍光色素修飾ペプチドを提示したファージライブラリから蛍光バイオセンサーを探索する手法を開発した。ペプチドライブラリは、 α ヘリックス構造を形成するように設計されており、蛍光色素ニトロベンゾオキサジアゾール(NBD)の修飾部位であるシステイン残基が4つのランダム残基と同一面に配置される(図1)¹⁾。構築した NBD 修飾ライブラリを用いて5ラウンドのスクリーニングを行った結果、標的蛋白質であるガレクチン3 (Gal-3) に選択的に結合する NBD 修飾ペプチドを得た。ヒットしたペプチドの蛍光強度は Gal-3 の濃度に応じて増加し、この蛍光応答は目視で観察することができた。

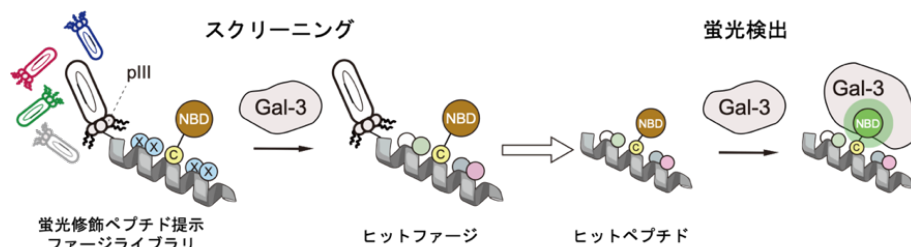


図1. 蛍光修飾ペプチド提示ファージライブラリによる蛍光バイオセンサーの探索

1) Chang, I.; Tsutsumi, H.; Mihara, H. (2017) *Mol. BioSyst.*, **13**, 2222-2225.