

タンパク質固定化キャピラリーを用いたペプチドファージライブラリの新規スクリーニング手法の開発

(東工大生命理工¹) ○道源 恵¹・橋本 匡浩¹・三木 卓幸¹・三原 久和¹・堤 浩¹
Development of a New Screening Method for a Peptide Phage Library Using Protein Immobilized Glass Capillaries (¹*School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology*)
○Megumi Dogen,¹ Masahiro Hashimoto,¹ Takayuki Miki,¹ Hisakazu Mihara,¹ Hiroshi Tsutsumi¹

The phage display is a powerful method to obtain a target-binding ligand from a phage library displaying various peptides. In the conventional screening method using target compound immobilized magnetic beads, rapid screening of the target-binding peptides is difficult due to laborious washing operations in order to remove weakly bound phages. Therefore, in this study, we aim to establish an efficient screening method by immobilizing the target protein on the inner wall of the glass capillary in which a simple washing operation using a syringe pump is available. Streptavidin (SA) was immobilized in a biotin-modified glass capillary. Screening conditions were investigated using positive phage (HPQ) and negative phage (GGG) for SA. The phage library (X₉) displaying 9 random amino acid residues was constructed using a genetic engineering technique. The X₉ library had sufficient amino acid diversity for screening. Lastly, SA-binding peptide was screened using the X₉ phage library under optimized screening conditions.

Keywords : *Phage display, Peptide phage library, Screening, Protein immobilization, Glass capillary*

ファージディスプレイ法は、様々な設計ペプチドを提示したファージライブラリを用いて標的結合リガンドを探索できる強力な手法である。標的化合物を固定化した磁気ビーズを用いた従来のスクリーニング法では、低結合ファージを除くために複数回の煩雑な洗浄操作を行う必要があるため、迅速かつ簡便に標的結合ペプチドを獲得することが難しい。そこで本研究では、化学修飾により機能化したキャピラリー内壁に標的タンパク質を固定し、シリンジポンプを使用した連続的な洗浄により、効率的なスクリーニング手法の開発を目的とした。まず、キャピラリー内壁に固定化したビオチンを介してストレプトアビジン(SA)を固定化させ、SA に対するポジティブファージ(HPQ)とネガティブファージ(GGG)を用いて、スクリーニング条件の最適化を検討した。次に、遺伝子工学的手法を用いて、ランダムなアミノ酸 9 残基が並んだペプチドを提示したファージライブラリ構築し、スクリーニングに十分なアミノ酸配列多様性をもつことを確認した。最後に、最適化したスクリーニング条件でファージライブラリを用いた SA 結合ペプチドの探索を行った。