

バイオセンシング・ツールとしてのペプチド

(北陸先端科学技術大学院大学) 横山憲二

1. はじめに

近年、コンビナトリアル・バイオエンジニアリング法により新たな分子認識材料を取得しようという試みが盛んに行われている。演者らはファージ提示系ランダムペプチドライブラリーを用いて選択した分子認識能を有するペプチドをバイオセンシングの道具として利用する研究を行っている。すなわち、(1) タンパク質を部位特異的に認識するハイブリッドペプチド、(2) 分子認識能を有するレドックス活性ペプチド、そのほかに蛍光物質を修飾したセンサーペプチドを設計・合成している。本シンポジウムでは、演者らが行ってきた研究を紹介し、ペプチドをバイオセンシング・ツールとして利用するにはどうすればいいか議論したい。

2. タンパク質を部位特異的に認識するハイブリッドペプチド

演者らはグルコースオキシダーゼ (GOx) の活性部位 (FAD) 付近の 52-58 番目のアミノ酸配列 (GSYESDR) および活性部位から遠い位置にある 197-203 番目 (GVPTKKD) に対して特異的親和性を持つ 12mer ペプチドをファージ提示系ランダムペプチドライブラリーを用いてスクリーニングした。また、得られたペプチドと GOx との親和性をビアコアにより測定した結果、得られたほとんどのペプチドが GOx に対し親和性を示し、他の数種のタンパク質に対しては全く親和性がなかった。次に、結合・解離速度論的解析を行い解離定数を決定したところ、 10^{-4} から 10^{-5} M 程度であり、あまり高い親和性が得られなかった。そこで2つのペプチドをペプチドリンカーでつなぎ GOx の2箇所を特異的に認識するハイブリッドペプチドを合成した。その結果、リンカー長 15mer のハイブリッドペプチドは 10^{-6} M オーダーの解離定数を示し、親和性の増加が見られた。

3. 分子認識能を有するレドックス活性ペプチド

これまでのバイオセンサーでは、酵素に対して親和性を示す電子伝達メディエーター (タンパク質・電極間インターフェース分子) は用いられてこなかった。しかし、より高性能なセンサーを設計するためには、酵素の活性部位付近に選択的に結合するメディエーターを用いた方が有利であると考えられる。そこで演者らは、GOx の活性部位付近 (GSYESDR) に対し親和性を持つペプチドにフェロセンを位置選択的に修飾したレドックス活性ペプチドを合成した。また、このレドックス活性ペプチドを GOx のメディエーターとし、電子移動速度を調べた。その結果、認識配列を持たないペプチドを用いた場合にくらべ、高い電子伝達活性が見られた。

Peptides as Biosensing Tools

Kenji Yokoyama, Japan Advanced Institute of Science and Technology

[Keywords] phage display, hybrid peptide, redox active peptide