1P-277 Toll-like receptor 4 (TLR4) 由来ペプチドライブラリーによる細菌結合ペプチドの探索

○高橋 雄太, Ilva Hunun Harlisa, 田中 祐圭, 大河内 美奈
(東工大院・理工)
okochi@chemeng.titech.ac.jp

【背景と目的】ペプチドは低分子でありながら、標的分子に対して高い親和性を有することから、マイクロ・ナノシステムにおける検出用プローブとして注目されている。Toll-like receptor 4 (TLR4)は、動物細胞における微生物認識受容体、特にリポ多糖認識分子として機能することが明らかとなっている。本研究では、小型、安価で安定性の優れた細菌検出デバイスの創出に向け、微生物認識能を有する Toll-like receptor 4 (TLR4) に着目し、そのアミノ酸配列に基づいたペプチドアレイを作製することで細菌結合ペプチドを探索し、ペプチドプローブを設計することを目的とした。

【実験方法と結果】TLR4のアミノ酸配列を基に、N末端から2残基ずつずらした420種類の8残基ペプチドアレイを合成した。このペプチドアレイを用いて蛍光標識した大腸菌との結合試験を実施することで、特に高い結合能を有する3つの領域を同定することに成功した。さらに、それらの候補ペプチドに対して、残基置換等による結合能の変化を評価した結果、特定の正電荷アミノ酸が置換された場合に顕著に結合能が低下することが確認された。今後、これらのペプチドを利用して検出プローブを設計し、半導体デバイスやマイクロ・ナノ材料等に修飾することで、新たな細菌検出システムを構築できるものと期待される。

Screening of *Escherichia coli* binding peptide from TLR4-derived peptide library

○Yuta Takahashi, Ilva Hunun Harlisa, Masayoshi Tanaka, Mina Okochi
(Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Tech)

Key words peptide, *Escherichia coli*, Toll-like receptor

1P-278 層状物質上におけるグラファイト結合ペプチドの膜安定性と非特異吸着防止効果の評価

○増島 弘顕, 大西 知子, 早水 裕平
(東工大院・理工)
hayamizu.y.aa@m.titech.ac.jp

【背景・目的】バイオセンサの普及を視野にいれ、様々な検体を高感度で検出可能なバイオセンサ材料の開発を目指している。我々が注目しているのは、グラフェンや二硫化モリブデンといった2次元層状物質を半導体活性層にした電界効果トランジスタ(FET)を用いた電気的検出法であり、この方法は即時性がある簡単な装置で検出が可能になるという利点がある。本研究では、安定したバイオセンサの活性表面構築に向け(1)非特異吸着を抑えるペプチドを表面上に吸着させ、形成されたペプチド膜の緩衝溶液中での安定性、(2)実際に血清タンパク質などによる非特異吸着が起きないか、について検討した。

【方法・結果】10 μ Mの非特異吸着防止ペプチドをミリQ水に溶かした水溶液を2次元層状物質に滴下し、37 $^{\circ}$ Cで1時間、恒温静置することで、ペプチドを表面に吸着させた後、表面を原子間力顕微鏡で観察した。次に、サンプルに緩衝液もしくはBSAを含有する水溶液を滴下し、表面を原子間力顕微鏡で観察した。本実験で用いた2次元層状物質はグラファイトと二硫化モリブデンであった。実験の結果、グラファイトにおけるペプチド膜は二硫化モリブデン上のペプチド膜に比べて、安定に存在することが示唆された。また、ペプチド膜には微小な空孔があり、その空孔にBSAが吸着している様子が観測された。

Characterization of self-assembled peptides on two-dimensional layered materials for their stability and suppression of unspecific absorption

○Hiroaki Masujima, Tomoko Ohnishi, Yuhei Hayamizu
(Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Tech)

Key words biosensor, peptide, immobilization

1P-279 乳酸菌と親和性を持つグラフェン結合ペプチドの評価

○大西 知子, 増島 弘顕, 田中 祐圭, 大河内 美奈, 早水 裕平
(東工大院・理工)
hayamizu.y.aa@m.titech.ac.jp

【背景と目的】我々は、様々な検体を高感度で検出可能なナノ材料とペプチドを複合的に用いたバイオセンサ材料の開発を行ってきた。これまで、2次元ナノ材料に親和性をもつペプチドの開発に成功しており、今後は乳酸菌に対する親和性をもつペプチドとグラフェン結合性ペプチドの融合ペプチドを作製することにより、単層グラフェンによるナノレベルでの乳酸菌センシングが期待される。本研究では、低コストでグラフェンに代表される2次元ナノ材料に乳酸菌を固定させる技術の開発を目的とする。

【方法と結果】本実験では、グラフェンと同じ表面を持つグラファイトを使用した。スライドガラス上に固定したグラファイトおよび二硫化モリブデンの鱗片上に、乳酸菌親和性の融合ペプチドを自己組織化させた後、乳酸菌を接種した。その後、液体静置培養を行い、残留した乳酸菌を観察した。対照実験としてペプチドのない鱗片でも同様の実験を行った。その結果、ペプチドを用いた場合は、グラファイトにおいては乳酸菌が安定に存在することが示唆されたが、二硫化モリブデンでは、安定ではなかった。

The evaluation of graphite binding peptides with affinity to *Lactobacillus*

○Tomoko Ohnishi, Hiroaki Masujima, Masayoshi Tanaka, Mina Okochi,
Yuhei Hayamizu
(Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Tech)

Key words peptide, *Lactobacillus*, immobilization

1P-280 TNT 認識ペプチドの開発に向けた抗 TNT 抗体の可変領域の解析

○武藤 正記^{1,2}, 田中 祐圭^{1,2}, 上田 宏³, 小野寺 武^{2,4}, 都甲 潔^{2,5},
大河内 美奈^{1,2}
(¹東工大院・理工, ²JST・ImPACT, ³東工大・資源研, ⁴九大・味覚・嗅覚センサ研究開発セ, ⁵九大院・シス情)
okochi@chemeng.titech.ac.jp

【背景と目的】環境中の様々な有害低分子を簡便に計測することを目的としたセンサの開発が試みられている。その中で、デバイスの小型化が可能な電界効果トランジスタなどのセンシングシステムの開発には、低分子で安定性が高く、デザイン性の高いプローブ設計が望まれており、合成ペプチドが着目されている。本研究では、爆薬である2,4,6-trinitrotoluene (TNT)の測定を目的とし、TNTに高い特異性を示す抗 TNT 抗体の可変領域のアミノ酸配列を同定し、TNT検出に利用可能なペプチドプローブの設計を図った。

【方法】抗 TNT モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞から Total RNA を抽出し、RACE 法により抗体の遺伝子断片を増幅した。得られた PCR 産物から取得された配列情報を IMGT/V-QUEST により相同解析することで可変領域の同定を行った。

【結果】抗 TNT 抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域を解析した結果、重鎖の可変領域のアミノ酸配列は120残基であり、軽鎖では100残基であった。可変領域の相補性決定領域(CDR)への TNT の結合が AutoDock による結合シミュレーションにより予測された。今後、TNT に対する CDR 由来ペプチドの結合性試験により、配列を最適化することで TNT の検出が可能な検出プローブが開発出来るものと期待される。

Designing of peptide probe from anti-TNT antibody variable region toward sensing of explosive compounds

○Masaki Muto^{1,2}, Masayoshi Tanaka^{1,2}, Hiroshi Ueda³, Takeshi Onodera^{2,4},
Kiyoshi Toko^{2,5}, Mina Okochi^{1,2}
(¹Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Tech, ²JST ImPACT, ³Chem. Res. Lab., Tokyo Tech,
⁴R&D TAOS, Kyushu Univ., ⁵Grad. Sch. Sci. Electrical Eng., Kyushu Univ.)

Key words peptide probe, anti-TNT antibody, TNT