

30P-am433

ランダムペプチドライブラリーを用いた新規ペプチドリガンドの探索

○峰松 清¹, 伊達 有子¹, 小嶋 英二朗¹, 白木 洋²(¹福山大薬, ²横浜薬大薬)

【目的】ヒトリンパ球向性ウイルス I 型 (HTLV-I) は、ヒトの悪性腫瘍に直接関与することの認められたレトロウイルスである。HTLV-I 表面抗原蛋白質である gp46 の特定の部位 (gp46-197) が感染および HTLV-I 関連疾患の発病に大きく関与していることが報告されている。今回 gp46-197 と相互作用を示すペプチドを探索する目的でファージディスプレイペプチドライブラリーの利用するために行った基礎検討について報告する。

【方法】今回、12 アミノ酸残基のランダムペプチドを含むファージディスプレイライブラリー (1×10^{13} pfu/ml, Complexity: 2.7×10^9 transformants) を用いた。ストレプトアビジンコートしたマイクロタイタープレートに 2×10^{11} pfu 相当のファージを加え、洗浄操作を行い、ストレプトアビジンに対しビオチンと Gly-HC1 で溶出を行う操作を 3 ラウンド行った。ファージクローンをランダムに 8 個ずつ選択し、ランダムペプチド部分のシークエンスの解析を行い比較検討した。ストレプトアビジンに対する相互作用を示すペプチドとして 12 アミノ酸残基のランダムペプチド部分に His-Pro-Gln 配列を有するものを特異的配列とみなし評価した。

【結果・考察】1st ラウンドから 3rd ラウンドにかけてビオチン溶出における特異的結合能を持つファージは 279 倍、Gly-HC1 では 56 倍に増幅した。また 3 ラウンド後のビオチン溶出でのシークエンスでは His-Pro-Gln 配列を有するものの割合は 87.5% (7/8)、Gly-HC1 での溶出では 75% (6/8) という結果に至った。ストレプトアビジンに特異的なファージクローンの抽出操作としては 3rd ラウンドで十分なものと考えられた。この結果に基づき、gp46-197 に対する解析を行いその結果もあわせて報告する。