

1 分子ペプチドアミノ酸配列決定法の開発を目指した *N*末端 Gly・Phe 結合人工抗体の創製

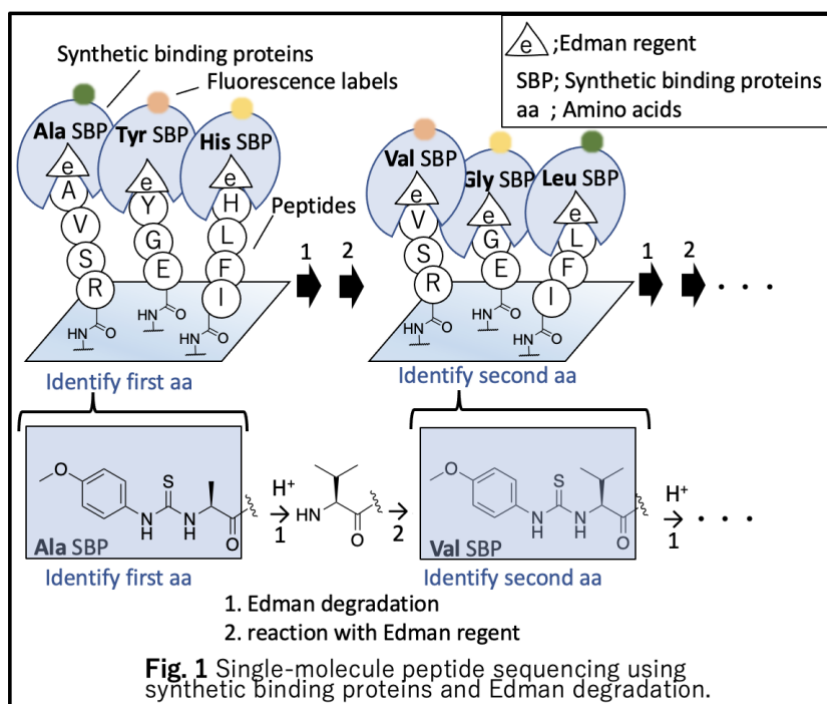
○菅野晃矢¹・近藤太志¹・梅本駿¹・藤野公茂¹・林剛介¹・村上裕^{1,2} (¹名古屋大院工,²名古屋大学ナノライフ)

Development of synthetic binding proteins binding to *N*-terminal Phe or Gly of a peptide for single-molecule peptide sequencing (Graduate School of Engineering, Nagoya University¹, Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University²) SUGANO, Koya¹; KONDO, Taishi¹; UMEMOTO, Shun¹; FUJINO Tomoshige¹; HAYASHI, Gosuke¹; MURAKAMI, Hiroshi^{1,2}

一分子レベルでペプチド配列解析を行う技術は、アミノ酸配列決定の感度を大幅に高めることができるため、科学・医療分野の研究を大きく進展することになると期待されている。当研究室では、*N*末端アミノ酸に特異的に結合する人工抗体群、全反射照明蛍光顕微鏡、ガラス基板上でのエドマン分解を組み合わせ、「超並列ペプチド1分子アミノ酸配列決定法」の開発を進めている (Fig. 1)。

本研究の鍵となるのは、エドマン分解試薬で修飾したペプチド *N* 末端をアミノ酸特異的に認識して、ペプチドに結合する人工抗体である。そこで本研究では、ペプチドの *N* 末端にエドマン分解試薬を反応させた標的分子を合成し、

100 兆種類からなる人工抗体ライブラリから、ペプチドの *N* 末端に特異的に結合する人工抗体を TRAP 提示法^{1,2} を用いて得ることを試みた。7 回の選択操作の後、得られた cDNA を次世代 DNA シークエンサで決定して、そのうちの幾つかの人工抗体を大腸菌で発現した。これら人工抗体を精製した後、バイオレイヤー干渉法で、様々なアミノ酸を *N* 末端にもつペプチドに対して結合の特異性を測定したところ、3 種類の人工



抗体が Phe もしくは Gly に特異性を有することがわかった。本研究において *N* 末端アミノ酸特異的に結合する人工抗体創製が可能であることが証明されたため、今後は、20 種類の天然アミノ酸の他に、翻訳後修飾アミノ酸についても、人工抗体を創製する予定である。

近年、一部のアミノ酸のみに対応した一分子ペプチドシーケンス法^{3,4} が発表された。これに対し、我々の方法はアミノ酸特異性を人工抗体で発現できるため、20 種類天然アミノ酸、翻訳後修飾アミノ酸、非天然アミノ酸に対応した、汎用性の高い一分子ペプチドシーケンス法となると考えられる。

1) Ishizawa, T. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 14, 5433 (2013); 2) Kondo, T. et al., *Sci. Adv.*, 6, 42, abd3916, (2020) ; 3) J. M. Rothberg et al. *Science*, 378, 186 (2020); 4) E. M. Marcotte et al. *Nat. Biotech.*, 36, 1076 (2018)