

平成21年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 3 2 6 9 2      2. 研究機関名 東京工科大学
3. 研究種目名 若手研究 (B)      4. 研究期間 平成20年度～平成21年度
5. 課題番号 2 0 7 6 0 5 4 3

6. 研究課題名 昆虫由来生理活性ペプチドを改変した受容体バイオセンシング素子の開発
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 3 5 8 1 3 1	フリガナ: ミヤチ ヒロタカ 宮地 寛登	応用生物学部	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

タンパク質工学、環境、創薬や医療などの分野において、タンパク質を高感度に検出する技術が求められている。本研究では、標的タンパク質を特異的に認識するペプチド鎖を担体に高密度に固定化する方法を開発することを目的とし、ロイシンジッパー・モチーフの構造および特性に着目した。このため、担体との固定化領域をN末端に配置し、ロイシンジッパー・モチーフを直列に配置した構造を有する足場ペプチドを設計・精製した。つぎに、ヒト・上皮増殖因子受容体(EGF-R)およびヒト血管増殖因子(VEGF)と特異的に結合するペプチド鎖をそれぞれ設計した。具体的には、ペプチド鎖のN末端側に足場ペプチドとの結合領域を有し、リンカー配列を介してC末端側に標的タンパク質と特異的に結合する分子認識ペプチドを設計した。設計したペプチド鎖はそれぞれ大腸菌による大量発現系を構築し、精製した。精製したペプチド鎖はそれぞれSDS-PAGEにより確認している。このようにして得られたペプチド鎖を表面プラズモン共鳴法(SPR: Surface Plasmon Resonance)を用いて評価した。この結果、ロイシンジッパー・モチーフを直列に配置した足場ペプチドはSPR用チップに強固に固定化可能であり、分子認識ペプチドを一定面積に対して、配向性、規則性のある高密度な固定化が実現できることが示唆された。また精製した分子認識ペプチドは標的タンパク質と特異的に結合し、さらに直列に配置したロイシンジッパー・モチーフの繰り返し回数に応じて検出シグナルの増強がみられた。以上の結果から、本研究では配向性を制御し高感度化を実現した分子認識素子の固定化技術の開発をおこない、ヒト受容体の検出と共に多くの腫瘍細胞から産生・分泌していることが知られるガンマーマーカータンパク質を標的とした分子認識ペプチドを設計してバイオセンサーの構築を実現した。

10. キーワード

(1) バイオテクノロジー	(2) 生体機能利用	(3) 蛋白質
(4)	(5)	(6)
(7)	(8)	(裏面に続く)

11.研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（0）件    うち査読付論文 計（0）件

著者名	論文標 題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

著者名	論文標 題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

著者名	論文標 題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁

〔学会発表〕 計（4）件    うち招待講演 計（0）件

発表者名	発表標 題		
佐々木達也、宮地寛登	分子認識ペプチドの設計および高密度化法の開発		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本分子生物学会	2009年12月9日	パシフィコ横浜	

発表者名	発表標 題		
原田将吾、宮地寛登	ペプチドの分子認識能を用いた血管増殖因子（VEGF）検出法の開発		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本分子生物学会	2009年12月9日	パシフィコ横浜	

発表者名	発表標 題		
高木政人、宮地寛登	蛍光標識分子認識ペプチドを用いた血管増殖因子(VEGF)検出法の開発		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本分子生物学会	2009年12月9日	パシフィコ横浜	

発表者名	発表標 題		
佐々木達也、宮地寛登	ロイシンジッパーモチーフの特性を利用したペプチドの高密度固定化法の開発		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会	2010年3月29日	東大（駒場）	

〔図 書〕 計（0）件

著者名	出 版 社		
	書 名	発行年	総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取 得】 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--