

4S126 活性タンパク質のコンビナトリアルライブラリーの構築に
向けて - 酵母表層ディスプレイの新展開
(京大院・工・生化) ○植田充美、鄒文、田中渥夫

DNA配列という情報配列には、いまだかつて遭遇していない未開拓な新機能タンパク質を生み出す魅力に富んだ高分子の世界を創製する可能性の存在が予想されている。これまで、バイオテクノロジーの世界では、試験管内分子進化法などにより、新しい分子認識機能をもった核酸ポリマーなどの物質も生まれてきているが、タンパク質の局面から見れば、昨今、ファージディスプレイに代表される手法が活性を持つペプチドの創製に威力を発揮しつつある。しかし、もっと分子サイズの大きいタンパク質になると、その発現ディスプレイ戦略としてのブレイクスルーが必要となる。

我々が細胞表層領域に移行し局在するタンパクの分子生命情報を基に、遺伝子工学的ならびに細胞工学的手法によって開発した細胞表層に標的させる分子をデザインする手法である【細胞表層工学】(Cell Surface Engineering)技術とこれにより生み出された新機能細胞 (Arming Cell) は、活性を保持した分子サイズの大きいタンパク質のディスプレイ戦略に一つのブレイクスルーとなる可能性が示唆されてきた。

方法としては、酵母から動植物の広い範囲にわたって真核細胞表層へ輸送局在するタンパク質のもつ、N末端の分泌シグナルとC末端のGPIアンカー付着シグナルという2つの疎水的シグナルを用い、酵母の場合にはさらにPI特異的リパーゼによって固定部分を切断され、そのあと細胞壁に共有結合してタンパク質を外界にむけて配向固定させるというシステムを用いる。酵母 *Saccharomyces cerevisiae* においては、細胞表層最外殻に位置する性凝集素タンパク質である α -アグルチニンの分子情報を活用することによって、異種微生物のグルコアミラーゼ、 α -アミラーゼやリパーゼ、さらに、CM-セルラーゼや β -グルコシダーゼなど種々の酵素やペプチドや機能性タンパク質を細胞表層に提示することに成功してきている。この細胞を担体とみなしたタンパク質の遺伝子工学的ディスプレイ法による活性タンパク質のコンビナトリアルライブラリーの構築について、細胞の形質転換や発現提示できるタンパク質などを検証し、酵母表層ディスプレイの新展開についてまとめる。

Construction of combinatorial library of active proteins by cell surface engineering

○Mitsuyoshi Ueda, Wen Zou, Atsuo Tanaka (Dept. Syn. Chem. & Biol. Chem., Grad. Sch. Eng., Kyoto Univ.)

【Key words】 cell surface engineering, yeast, combinatorial library