

S213 Panel discussion

Speakers of the Symposium et al.

General discussion will be made on the international collaboration for the promotion of sustainable utilization of tropical bioresources to construct a green chemistry world in 21st century.

Panel discussionSpeakers of the Symposium *et al.*

Key words International collaboration, tropical bioresources, gene resources, microorganisms, bioprocesses, novel materials

S215 タンパク質リガンドから低分子リガンドへ: α -ヘリックス構造ペプチド・ファージ・ディスプレイ・ライブラリー

○藤井郁雄, 高岡弓子 (生物分子工学研究所)

私たちの研究室では、天然にはない新しい機能を持つ生体分子の創製に向けて研究を進めている。その一つの方法として、免疫システムにみられるように、分子多様性 (ライブラリー) を構築し、その中から、効率的に目的とした機能分子を選別する手法を開発している (バイオ・コンビナトリアル・ケミストリーと呼ぶ)。これまで、ファージ抗体のライブラリーを用いて、触媒抗体を高機能化した。そこで、このバイオ・コンビナトリアル・ケミストリーをペプチド性機能分子に展開し、生理活性ペプチドの創出に成功したので報告する。

α -ヘリックス構造は酵素やレセプターのターゲットモチーフとして数多く報告されている。私たちはヘリックス・ループ・ヘリックス構造を完全 *de novo* デザインし、この溶媒面に位置する残基をランダム化した α -ヘリカルペプチド・ライブラリーをファージ上に構築した。このライブラリーをサイトカインレセプター (G-CSF レセプター) に対してスクリーニングし、特異的に結合する配列を同定した。このペプチドとレセプターとの複合体の NMR 構造解析を検討したところ、ペプチドのランダム化したアミノ酸部位がレセプターと結合していること、また、このペプチドがレセプターの G-CSF 結合部位で相互作用していることが判明した。この方法はアゴニスト・アンタゴニストの開発やタンパク質機能を低分子化するための優れた手法として期待される。

Toward proteomimetics: α -helical peptide libraries on a phage surface

○Ikuro Fujii, Yumiko Takaoka (Biomol. Eng. Res. Inst.)

Key words ペプチド, ファージ・ディスプレイ法, サイトカイン

S214 ファージディスプレイによるヒト抗体エンジニアリング○伊東祐二¹, 中島敏博², 橋口周平¹, 杉村和久¹ (¹ 鹿児島大・工・生体工, ² 化血研)

医薬品としての抗体の実用化、臨床開発が現在、急速に進んでいる。マウスハイブリドーマ技術をベースにヒト化などの抗体工学技術が大きく進展したことがその背景にあるが、一方で 1990 年代始めに現れたファージディスプレイは、*In vitro* での抗体選別が可能であり、完全ヒト型抗体をライブラリから直接取得できる点において、ハイブリドーマ技術に代わりうる有望な抗体産生技術として期待されている。

我々も、ヒトへの治療応用が可能な抗体を取得するため、抗体ファージライブラリーの構築を行い、ヒトの種々のレセプター、リガンド分子に結合する抗体クローンの単離を行ってきた。我々の抗体ライブラリーは、健康人由来の抗体 cDNA を元に、 γ , μ 鎖、 λ , κ 鎖の Fv 領域を増幅し、リンカーでつないだいわゆる scFv の遺伝子断片をファージミッドベクターに組み込んだものである。このような非免疫性の健康人由来の抗体遺伝子を用いたにもかかわらず、このライブラリからは、種々のヒト分子に結合する scFv が単離されており、医薬品への応用も期待される。

さらに、次世代の抗体技術として期待されているのが、細胞内で機能する抗体、いわゆるイントラボディである。細胞内分子を標的にするイントラボディは、細胞内医薬としても期待が高く、ゲノム機能解析における functional knock-out に応用できる可能性をもっている。このような抗体工学による新しい技術を含め、我々の最近の研究について紹介したい。

Human antibody engineering by phage display technology○Yuji Ito¹, Toshihiro Nakashima², Shuhei Hashiguchi¹, Kazuhisa Sugimura¹ (¹ Bioeng. Eng., Kagoshima Univ., ² Chemo-Sero-Therapeutic Res. Inst.)

Key words antibody, phage display, protein engineering, molecular targeting

S216 タンパク質「考」学への新しい視点—コンビナトリアル変異のハイスループット選択

○植田充美 (京大院・工・合成生化)

これまでタンパク質工学は、結晶化したタンパク質の X-線構造解析とそのモデリングから部位特異的変異法を用いて、構造と機能の相関を明らかにしたり機能改善したりする研究が主流であった。ところが、ここで登場してきた「コンビナトリアル・バイオエンジニアリング」によって、これまでの「点での変異」による戦略から、狙った領域やドメインを 20 種のアミノ酸で網羅的に変異をかけたタンパク質集団を作製し、そこから目的のものを直接的に選択するという戦略が可能となった。その際、細胞表面工学により、酵母の細胞表面にディスプレイすることにより、クローンのハイスループット選択が可能となる。導入遺伝子型と表現型が対応関係になっているので、ディスプレイしたタンパク質の分子配列を DNA 配列分析から決定できるということになる。この手法は、コンビナトリアルな変異タンパク質を個々に煩雑な精製をする必要なく、細胞ごと変異タンパク質として扱え、まさに、タンパク質「考」学において、革新的な視点を提供することになる。我々は、この手法を *R. oryzae* のリパーゼなどに適用し、これまでに部位特異的変異やランダム変異などによる点特異的な変異では到底得られなかった変異をもったリパーゼを高速に取得し、基質特異性の認識や活性と機能発現の関係のモデリングに大きな影響を与える情報を獲得してきている。さらに、その詳細な分子メカニズムの解析とその基質特異性の分子認識を変化させた分子種の作製へと展開が期待できる。

A novel aspect for development of protein engineering-high throughput system for selection of combinatorial mutants

Mitsuyoshi Ueda (Kyoto Univ.)

Key words cell surface engineering, タンパク質工学, 細胞表面工学, combinatorial library, high throughput, yeast