

705 隠れマルコフモデルを用いた MHC Class II 分子に対するペプチドの結合予測

○加藤竜司¹, 野口英樹¹, 花井泰三¹, 松原由香里¹, 本多裕之¹, Brusic Vladimir², 小林 猛¹ (¹名大院・工・生物機能, ²Kent Ridge Digital Labs, Lab. for Information Sci. Technol., Osaka Univ.)

生体において主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) 分子群は、抗原ペプチドを結合・提示することで免疫に深く関与する。免疫疾患や癌に対する新規な治療法の開発において、抗原ペプチドと MHC の結合様式の解明は非常に重要である。特に MHC class II 分子は、多型である上結合する抗原ペプチドの長さが多様であるため、実験的なエピトープ同定は困難である。

近年、生物情報の処理にコンピュータを応用し、生体反応の予測を行う bioinformatics が有望視されている。既存の ANN などを用いた MHC class II の解析では、入力としてペプチドの長さを限定する必要があった。我々は隠れマルコフモデル (HMM) を適応することで、ペプチド長を限定しない高精度の結合推定モデル (S-HMM) を構築し、既存の予測手法である ANN と比較を行いその有用性を示した。

Hidden markov model-based prediction of antigenic peptides that interact with MHC class II molecules

○Ryuji Katou¹, Hideki Noguchi¹, Taizo Hanai¹, Yukari Matsubara¹, Hiroyuki Honda¹, Vladimir Brusic², Takeshi Kobayashi¹ (¹Dept. Biotech., Sch. Eng., Nagoya Univ., ²Kent Ridge Digital Labs, Lab. Information Sci.)

Key words peptide, HMM, bioinformatics, MHCclassII, prediction, computational

707 固形培地上での簡便で迅速な枯草菌の形質転換

高山 豊¹, 藤重耕作¹, 本部恭平¹, 田口久貴², ○赤松 隆² (¹崇城大, ²崇城大・工・応微工)

1. 目的: 固形培地上で mgDNA 当たり 2.3×10^6 個の頻度で枯草菌の形質転換を認めているが、高頻度異種間形質転換を導く *ist1* や *ist2* などの遺伝的解析にはさらに 100 倍近く頻度を上昇させる必要がある。本研究は、固形培地上での高頻度形質転換法の開発および固形培地上での転換機構を調べる。

2. 方法: 固形培地上で細胞がコンピテントになる基礎培地としてグルタミン酸と酵母エキスを含む 0.8% 寒天培地 (mTS 培地) を用いた。

3. 結果: 栄養細胞を懸濁し、プロトプラスト懸濁液と混合し、mTS 選択培地に塗抹する従来法と液体培養した細胞を集菌し、mTS 液体培地に懸濁し、プロトプラスト懸濁液と混合後、選択培地に塗抹する方法を比較した。その結果、従来法の数倍の転換効率の上昇を認めた。炭素源をグルコースからマルトースに変えた MTS 培地では転換効率はさらに数倍上昇した。両者を併せると元の転換効率の約 10 倍になった。さらに細胞濃度を 10 倍高めると転換体数は 10 倍上昇した。同種間の約 1,000 倍低い異種間形質転換の検出を試みたところ、期待通りの異種間組換え体を認めた。Arg⁺ 異種間組換え体の *aroG* や *leuB* マーカーの連鎖を調べたところ、予想以上の連鎖を認めた。PBS1 フェージ形質導入で解析したところ、組換えは距離に比例する組換えと類似していた。

Simple and rapid method for transformation of Bacillus subtilis on solid medium by DNA in protoplast lysate

Yutaka Takayama¹, Kousaku Fujishige¹, Kyouhei Honbu¹, Hisataka Taguchi¹, ○Takashi Akamatsu² (¹Appl. Micro. Technol., Sojo Univ., ²Appl. Micro. Technol., Sojo Univ.)

Key words transformation, Bacillus subtilis, competent, solid medium, DNA, protoplast

706 DNA チップデータの FNN モデル解析によるリンパ腫患者の予後診断

○安藤達哉¹, 花井泰三¹, 片山 幸², 瀬戸加大², 小林 猛¹, 本多裕之¹ (¹名大院・工・生物機能, ²愛知県ガンセンター・遺伝子医療)

知識情報手法の 1 つであるファジィニューラルネットワーク (FNN) を用いて、約 6000 という大量の遺伝子発現情報から迅速に予後関連遺伝子を選択し、リンパ腫患者 58 人の 1. 予後推定を高い精度で行うとともに、2. 選択遺伝子の予後との関係をルールとして抽出するツールの開発を行った。

はじめに、SWEEP 演算法と変数増加法を併用し、短時間で数個の遺伝子を入力変数として選択した。次に、選択された遺伝子を入力変数として、FNN モデルを構築し、患者の生死を推定した。クロスバリデーションを行い、全患者を評価用としたときの正答率の平均が 90% を超える遺伝子の組が 9 組見つかった。いずれの遺伝子の組も 4 または 5 遺伝子で構成され、少ない遺伝子数により高い正答率で予後を推定できた。また、その複数の遺伝子の予後への関連を調べることで、国際予後指標で low risk と判定された患者でも死亡する群を発見することができた。

Fuzzy neural network applied to gene expression for prognosis of diffuse large B-cell lymphoma

○Tatsuya Ando¹, Taizo Hanai¹, Miyuki Katayama², Masao Seto², Takeshi Kobayashi¹, Hiroyuki Honda¹ (¹Dep. Biotech., Sch. Eng., Nagoya Univ., ²Div. Mol. Med., Aichi Cancer Center Res. Inst.)

Key words Fuzzy Neural Network, GeneChip, bioinformatics

708 植物からの新奇バクテリオシン生産乳酸菌の探索

○善藤威史, 古賀祥子, 瀬戸絃美, 中山二郎, 園元謙二 (九大 大院・農)

【目的】乳酸菌は腸管や発酵乳中だけでなく、植物体など自然界に広く存在している。また、乳酸菌が生産するペプチド性の抗菌物質、バクテリオシンは、従来の抗菌剤に代わる安全な食品保存料としての利用が期待されている。本研究では、植物に棲息する乳酸菌、いわゆる植物性乳酸菌をターゲットとして新奇バクテリオシン生産菌のスクリーニングを試みた。

【方法・結果】野菜や穀物などの食用植物を分離源としてバクテリオシン生産乳酸菌の分離を試みた。その結果、トウモロコシなどから多数のバクテリオシン生産乳酸菌が得られた。MRS 培養液上清を用いて抗菌活性試験を行ったところ、分離株の抗菌スペクトルは、*Lactococcus lactis* へのみ抗菌活性を示す特異性の高いものから、種々のグラム陽性菌に対して幅広く抗菌活性を示すものまでさまざまであった。16S rDNA 解析などによる同定の結果、分離株の大半は *Lactococcus lactis* であった。抗菌スペクトルをはじめとする諸特性や HPLC による解析により、複数の株が生産するバクテリオシンがナイシン Z であることが明らかとなった。次に、これ以外のバクテリオシンで、より新奇性の高いと考えられるものについて精製を行った。精製は、MRS 培養液上清から、陽イオン交換クロマトグラフィー、逆相 HPLC などによって行った。現在、精製されたバクテリオシンの N 末端アミノ酸配列の解析と MALDI-TOF MS による分子量の決定を進めている。

Screening of novel bacteriocin-producing plant origin lactic acid bacteria

○Takeshi Zendo, Shoko Koga, Hiromi Seto, Jiro Nakayama, Kenji Sonomoto (Fac. Agric., Grad. Sch., Kyushu Univ.)

Key words bacteriocin, nisin, lactic acid bacteria, Lactococcus lactis