

cDNA display 法の拡張・高機能化及び分子進化モデル実験の構築

Improvement of cDNA display method and its application for evolutionary molecular engineering of enzyme

根本 直人^{1*}、木村 真之介¹、望月 佑樹¹、ビヤニ マニシュ²、一木 隆範²
Naoto Nemoto¹, Shinnosuke Kimura¹, Yuki Mochizuki¹, Manish Biyani², Takanori Ichiki²

¹ 埼玉大学 理工学研究科

Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

² 東京大学 工学研究科

Graduate School of Engineering, University of Tokyo

進化分子工学は分子配列の僅かな改変により、核酸、タンパク質、ペプチド等の生体高分子の分子親和性や酵素機能を数 10 倍も向上させる先端バイオテクノロジーであり、近年、抗体医薬やペプチド医薬創出への応用等で注目を集めている。しかしながら進化分子工学の中心技術である試験管内分子進化実験は上述の抗体医薬等の分子親和性の向上（アプタマーの創出）には成功しているものの、タンパク質の代表とも言える酵素に関しては試験管内で効率良く選択する技術が未だ開発の端についた段階である。そこで本研究ではナノバイオチップや 1 分子計測というナノバイオ技術を進化分子工学と融合することにより、セル型分子機能スクリーニングシステムを開発し従来困難であった酵素、酵素阻害剤（インヒビター）などの高効率スクリーニングを世界で初めて可能にし、高速分子進化技術の創出効率

と汎用性の革新的な向上を目指している。

本年度はセル型分子機能スクリーニングシステムにおいて重要なマイクロリアクターのアレイ転写における効率の良い DNA, RNA の固定化法及びタンパク質の発現・固定化法を検討した。特に煩雑な精製プロセスはプロセス全体を通して実用化の大きな障壁となることから、1) 転写後精製を必要とする cap 構造を用いずに mRNA を安定化する方法 2) mRNA とリンカーの結合に酵素（T4RNA リガーゼ）を用いない固定化 について検討し、1) に関しては mRNA の 5' 末端に G-quadruplex 様配列を導入することで可能であることを見出した。2) に関しては条件を工夫することで酵素による mRNA との連結なしに cDNA を固定化することに成功した。また、セルラーゼ酵素反応測定条件に関する予備的検討を行った。

* 〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 2 5 5
電話：048-858-3531 FAX：048-858-3531

Email：nemoto@fms.saitama-u.ac.jp