

ブロックシャフリングによる増殖可能ペプチドライブラリの作成

Generation of reproducible peptide libraries by block-shuffling

西垣 功一^{1*}、木下 保則¹、榎崎 真介¹、西澤 博¹、北村 幸一郎¹、佐野 友美²、根本 直人²

Koichi Nishigaki¹, Yasunori Kinoshita¹, Shinsuke Narasaki¹, Hiroshi Nishizawa¹, Kouichirou Kitamura¹,
Tomomi Sano², Naoto Nemoto²

¹ 埼玉大学 工学部機能材料工学科

Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University

² 株式会社 ジェンコム

GenCom Co., Ltd.

進化分子工学の一技術としてブロックシャフリング法の有用性を著者らは唱え、技術的開発を行っている。具体的方法論として、Y 連結ブロックシャフリング法を開発した。本研究では、この技術を利用し 16 残基長などのペプチドライブラリを構築し、オーファンリガンド探索など、有用なペプチドをスクリーニングするための材料とすることを目指した。

ブロックシャフリング法では、使用するブロックの選択が重要となる。ここでは、20 種のアミノ酸の中から疎水性、親水性(OH,SH 基など)、荷電性(陰/陽)および側鎖の大小を考慮して、Gly, Leu, Trp, Ser, Cys, Asp, Lys の 7 種のアミノ酸を選択しそれぞれをコードするトリヌクレオチドをブロックとする DNA ライブラリの合成から始めた。

8mer, 16mer のライブラリの合成自体はほぼ予定通り進行した。中間、及び最終ライブラリの多様性検証実験の結果から予定の多様性 (各々 7^8 , 7^{16}) が実現していると推定された。但し、この際に欠失突然変異が予想外の高頻度で発生しており、その原因の追求が必要となった。使用している制限酵素の不確実切断や、PCR 時の欠失がその原因と考えられ、これらの原因をできるだけ回避する方法を検討している。合成された DNA ライブラリから試験管内タンパク質合成系を利用してペプチドライブラリに変換する予定で、そのための DNA コンストラクト (mRNA 変換やタンパク質合成のための制御領域を含むもの) を構成する段階に到達した。この他、ライブラリを利用しスクリーニングしていくまでの過程で必要となる幾つかの技術的開発を行った。尚、本研究の成果の一部は、既に特許申請や学会発表に結びついている。

* 〒338-8570 浦和市中大久保 255 電話: 048-858-3533 FAX: 048-858-3533
Email: koichi@fms.saitama-u.ac.jp