

132 改変 streptavidin を用いたタンパク質活性制御系の開発

寺井 琢也

細胞内タンパク質の活性を任意のタイミングで制御する技術の開発は、生命現象の理解や疾患の治療に繋がることから近年盛んに研究されている。我々は最近 streptavidin に対して可逆的に結合する新規リガンド ALiS を見出し、これを用いて標的タンパク質の細胞内局在を繰り返し変化させる系を構築した。しかし、天然の streptavidin は 4 量体である上、ALiS との結合能についても改善の余地がある。そこで本研究ではこの系を真に実用的なものとするべく、ALiS の誘導体合成ならびに分子進化工学的手法による streptavidin の改変研究を行った。タンパク質の改変においては、error-prone PCR によって monomeric streptavidin 変異ライブラリーを作製し、puromycin を用いた核酸・ペプチド対応付け技術である cDNA display 法により変異体タンパク質ライブラリーへと変換した。このように調製した分子を固相に固定化した ALiS 誘導体と反応させ、結合分子を回収して DNA を増幅する過程を繰り返した。更に、次世代シーケンサーを用いた配列解析によって変異に関する情報を取得した。

cDNA display 法による streptavidin 変異体の分子進化

