

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 基盤研究(B)

研究期間： 2007 ～ 2010

課題番号： 19360373

研究課題名 (和文) 無細胞系分子ディスプレイシステムの構築と応用

研究課題名 (英文) Application and Development of Molecular Display by cell-free system

研究代表者

中野 秀雄 (Hideo Nakano )

名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授

研究者番号： 00237348

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学 ・ 生物機能・バイオプロセス

キーワード：エマルジョン PCR 、無細胞タンパク質合成系 、マイクロチャネル乳化 、ペプチド、 ビーズディスプレイ

## 1. 研究計画の概要

我々は無細胞の反応系のみで構築された、進化分子工学のためのシステム (ビーズディスプレイ) を開発し、新規タンパク質の創製に応用することを目的としている。具体的には 1) 均一エマルジョンを用いたビーズディスプレイシステムの構築、2) セルソーターによるハイスループットスクリーニング技術の開発 3) イメージング質量分析計を用いたハイスループットスクリーニング技術の開発、を当初の目的とした。

## 2. 研究の進捗状況

上記計画のうち 1)、2) については順調に研究が進行しているが、3) については初年度の検討により、適切なマイクロアレイが入手困難であったため、現在中止している。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。  
当初計画のうち、現在までの達成度は約 80% である。

## 4. 今後の研究の推進方策

これまでの検討により、核酸、蛋白質のスクリーニングシステムとしては、画期的に多用途で、かつハイスループットなシステムが構築されつつある。残りの 1 年で本システムの有用性を、具体的な事例で示していく予定である。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

- 1) Kojima, T., Hashimoto, Y., Kato, M., Kobayashi, T. and Nakano, H. High-throughput Screening of DNA Binding Sites for Transcription Factor AmyR from *Aspergillus nidulans* Using DNA Beads Display System. *J. Biosci. Bioeng* in press. (査読有り)
- 2) Gan, R., Furuzawa, S., Kojima, T., Kanie, K., Kato, R., Okochi, M., Honda, H. and Nakano, H. (2010) Directed Evolution of Angiotensin II-inhibiting Peptides Using Microbeads Display. *J. Biosci. Bioeng.* 109, 411-417. (査読有り)
- 3) 兒島 孝明、甘 睿、中野 秀雄 (2009) エマルジョン PCR が拓く分子間相互作用ハイスループットスクリーニング. *生物工学会誌*, 87, 283-286. (査読有り)
- 4) Gan, R., Yamanaka, Y., Kojima, T. and Nakano, H. (2008) Microbeads display of proteins using emulsion PCR and cell-free protein synthesis. *Biotechnol. Prog.*, 24, 1107-1114 (査読有り)

〔学会発表〕 (計 10 件)

- 1) 三上友美子、松田英樹、松井大悟、兒島 孝明、中野秀雄: ビーズディスプレイ法における DNA-蛋白質複合体の安定化 日本農芸化学会 東京 2010. 3, 29
- 2) 長尾 伸人、安東 大介、小島 晃代、河原崎 泰昌、兒島 孝明、中野 秀雄: エマルジョン培養法による分泌酵素産生菌の選択的濃縮 日本生物工学会 名古屋 2009. 9, 24

国内外の別：国内

- 3) 松井 大悟、浅賀 由香理、甘 睿、兒島 孝明、中野 秀雄：ビーズディスプレイ法を用いたリパーゼのハイスループットスクリーニング法の開発 日本生物工学会 名古屋 2009. 9, 24
- 4) Tadakaaki Kojima, Yoko Hashimoto, Masashi Kato, Tetsuya Kobayashi and Hideo Nakano:High-throughput Screening of DNA Binding Sites for Transcription Factor, AmyR, from *Aspergillus nidulans* Using Beads Display System of DNA. 4th Korea-Japan Workshop on Combinatorial Bioengineering, Seoul 2008. 11, 21
- 5) Hideo Nakano:Beads display: a Novel Technology to Explore Functional Biomolecules. 4th Korea-Japan Workshop on Combinatorial Bioengineering, Seoul 2008. 11, 21
- 6) Takaaki Kojima, Rui Gan, Yumiko Yamanaka and Hideo Nakano:Beads Display System of Proteins Using Emulsion PCR and Cell-free Protein Synthesis. 12th KOREAN PEPTIDE-PROTEIN SOCIETY SYMPOSIUM, Seoul 2008. 11, 20
- 7) Rui GAN, Yumiko YAMANAKA, Hideo NAKANO:Genotype-Phenotype Coupling Screening of DNA Molecules Displayed on Microbeads by Using Cell-free Protein Synthesis Biocat2008 Hamburg Germany 2008. 9, 1
- 8) 兒島孝明、橋本陽子、加藤雅士、小林哲夫、中野秀雄：DNA のビーズディスプレイ法を用いた DNA-転写因子間相互作用検出法 日本生物工学会 仙台 2008. 8, 28
- 9) 古澤聖司、Rui GAN、中野秀雄：無細胞蛋白質合成系を用いたマイクロビーズ上での分子ディスプレイ法の開発 日本農芸化学会 名古屋 2008. 3, 28
- 10) Rui GAN, Yumiko YAMANAKA, Takaaki KOJIMA, Hideo NAKANO: Microbeads Display of Proteins Using Emulsion PCR and Cell-free Protein Synthesis 日本農芸化学会 名古屋 2008. 3, 28
- 11) 橋本陽子、兒島孝明、加藤雅士、小林哲夫、中野秀雄：DNA のビーズディスプレイ法を用いた DNA 転写因子間相互作用検出法 日本生物工学会 東広島 2007. 9, 18

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：分子ディスプレイ法及びその用途

発明者：中野秀雄、古澤聖司

権利者：名古屋大学

種類：特許

番号：2009-178067

出願年月日：2008年1月29日