

〔背景と目的〕 植物レクチンは糖鎖、糖タンパク質、細胞の分画・同定などに用いられている。本研究では大豆アグルチニン Soybean Agglutinin (SBA) の糖鎖認識部位の一部であるループ C のうち 4 アミノ酸を遺伝子工学的にランダムに改変し、多様な糖認識特異性を持つ人工レクチンライブラリーを作製することを目的とした。

〔方法と結果〕 発芽大豆からクローニングした SBA 遺伝子を大腸菌発現用ベクター pFLAG-ATS に組み込み、大腸菌に発現させた。発現させた SBA-FLAG 融合タンパク質は抗 FLAG 抗体、抗 SBA 抗体により、大腸菌可溶性画分に確認された。また、天然型 SBA と同様に GalNAc 特異的な結合活性を有した。野生型 SBA を組み込んだ pComb3 フェージミドで形質転換した大腸菌を用いてフェージディスプレイ型 SBA を作製し、精製したフェージディスプレイ型 SBA が天然型 SBA 同様の糖認識特異性をもつことを確認した。次に、多様な特異性を持つものを含むフェージディスプレイ型改変 SBA ライブラリー作製のため、SBA 遺伝子を鋳型として 4 アミノ酸を遺伝子工学的にランダムに改変し、遺伝子ライブラリーとした。これを pComb3 フェージミドに組み込み、大腸菌を形質転換して改変型 SBA ライブラリーを作製した。このライブラリーから含まれる人工レクチンをランダムにクローニングし、シーケンス解析を行った結果、種々の異なる改変 SBA がライブラリーに含まれていることが確認された。この改変型 SBA ライブラリーをフェージディスプレイ型とし、パニングにより新規な特異性をもつレクチンを選別可能であることが判明した。