

## タンパク質工学

## Protein Engineering

2 単位 (選択)

辻明彦・教授 / 生物工学科 生物反応工学講座

【授業目的】動物、植物、バクテリアのゲノムには数千から数万種類のタンパク質の設計図が存在し、その情報をいかに医療や産業に利用するかは 21 世紀の生物工学の中心課題である。タンパク質工学は、バクテリアや培養細胞を用いて野生型または改変タンパク質を大量発現し、応用するための学問である。肝炎の治療薬であるインターフェロンや洗剤に含まれる蛋白分解酵素などは、このような技術で作られたタンパク質である。今後さらに難病の治療薬開発や化学・食品工業、環境浄化、省エネへの応用が期待されている。この講義では、タンパク質の構造と機能、遺伝子工学的または化学的にタンパク質を改変させる方法について、基本的原理と方法論を理解させることを目的とする。

【授業概要】前半は、タンパク質の立体構造と機能、バイオインフォマティクスによるタンパク質機能部位の解析を説明し、タンパク質の構造と活性関連の基礎知識を学修させる。後半は、遺伝子工学的手法を用いた改変技術、バクテリアや動物細胞を用いたタンパク質の大量調製法、化学的手法によるタンパク質の改変技術を、実例をあげながら説明する。最後に、自然界に存在しない新規タンパク質を作成するタンパク質工学の生命倫理問題について討論する。

【キーワード】PCR, 機能改変, タンパク質, 発現ベクター, 大腸菌, 精製, 動物細胞, 無細胞タンパク質合成

【先行科目】『生化学 1』(1.0), 『生化学 3』(1.0), 『生体高分子学』(1.0), 『分子生物学』(1.0)

【関連科目】『生化学 2』(0.5), 『酵素工学』(0.5), 『医用工学』(0.5), 『細胞生物学』(0.5), 『分子生物学』(0.5)

【履修要件】生化学 1,2,3, 生体高分子学, 分子生物学を受講していること。

【履修上の注意】予習および復習を行い、学修に役立つ講義ノートを作成すること。英語の資料を配布するので、専門英語に親しむこと。質問は、オフィスアワーまたは講義終了後に受け付けるので、不明なままで放置しないこと。

## 【到達目標】

1. タンパク質の構造と機能関連の予測、遺伝子工学的改変と発現の基本を理解する(授業計画 1-3 による)。
2. ズブチリシンの機能改変技術を通してタンパク質工学の基本を理解する(授業計画 4-14 による)。
3. タンパク質工学の生命倫理について認識する(授業計画 15 による)。

## 【授業計画】

1. 講義の説明とタンパク質工学概論(教科書 8.2 タンパク質工学の手法 151-155 頁)
2. タンパク質の基本構造(ペプチド結合,  $\alpha$ -ヘリックス構造,  $\beta$ -シート構造, モチーフ構造, モジュール, ドメイン構造, 教科書 1 章 1-25 頁)
3. タンパク質の構造に関する化学結合とその性質, ハイドロパシープロット(教科書 142—150 頁)
4. ズブチリシン E の cDNA 配列とアミノ酸配列の説明, PCR 法の原理(資料配布と PCR プライマー設計に関する宿題)
5. 宿題解説とズブチリシン E のアミノ酸変異(教科書 6.4.109 頁, 変異体作成に関する宿題)
6. 宿題解説と発現ベクターの特徴(資料配布)
7. 外来性タンパク質の大腸菌における発現システムと問題点(教科書 7 章 112-123, 130-141 頁)
8. 中間試験(到達目標 1 の一部評価)
9. 大腸菌以外のタンパク質発現法
10. 発現タンパク質の精製法
11. ズブチリシン E のタンパク質工学(資料配布)
12. 改変ズブチリシン E の安定性
13. 改変ズブチリシンの触媒活性の変化
14. 発現量を増加させるためのズブチリシンの改変(資料配布), 中間試験 2(到達目標 2 の一部評価)
15. タンパク質工学の生命倫理についてグループ討論(到達目標 3 の評価)
16. 期末試験(到達目標 1,2 一部評価)

【成績評価基準】到達目標 1 と 2 の達成度はそれぞれ中間試験(40%), 期末試験(60%)で評価し、到達目標 3 はグループ討論と発表で評価(100%)する。3 項目とも到達度 60%以上で合格とする。また、到達目標 1, 2 の評価点合計 80%, 到達目標 3 の評価点 20%の総計を最終成績とする。ただし、出席率 80%以上(12 回以上の出席)と 15 回目のグループ討論参加を期末試験の受験資格とする。

【JABEE 合格】成績評価と同じ。

【学習教育目標との関連】本学科教育目標 (A), (C), (D) に対応する。

## 【教科書】

- ◇ 「タンパク質 科学と工学」講談社
- ◇ 資料: Web site: <http://peds.oxfordjournals.org/cgi/reprint/10/9/985>

**【参考書】**

- ◇ 有坂文雄著 「タンパク質科学入門」
- ◇ 学習に役立つ Web site: タンパク質データベース Swiss-Prot <http://peds.oxfordjournals.org/cgi/reprint/10/9/985>, タンパク質立体構造データベース PDB <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, DNA データバンク DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp/Welcome-j.html>

**【授業コンテンツ】** <http://cms.db.tokushima-u.ac.jp/cgi-bin/toURL?EID=216121>

**【対象学生】** 他学科学生も履修可能

**【連絡先】**

⇒ 辻 (化生棟 710, 088-656-7526, [tsuji@bio.tokushima-u.ac.jp](mailto:tsuji@bio.tokushima-u.ac.jp)) MAIL (オフィスアワー: 月曜日 16:20-17:50)

**【備考】**

- ◇ 原則として再試験は実施しない。
- ◇ 授業を受ける際には、2時間の授業時間毎に2時間の予習と2時間の復習をしたうえで授業を受けることが、授業の理解と単位取得のために必要である。