

# 水溶性タンパク質に 簡便に脂質を導入する技術

九州大学 大学院工学研究院 応用化学部門  
教授 神谷 典穂

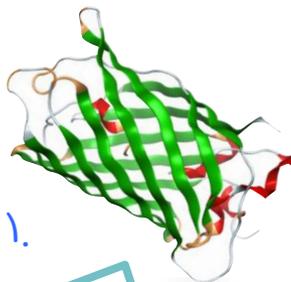


## 従来技術とその問題点

- 水に溶けない脂質を、タンパク質の狙った部位に導入する技術はほんの数例しか報告されておらず、その効率も低いものでした。
- また、一般的な化学修飾ではタンパク質に脂質がランダムに導入されてしまうことから、機能低下を避けられませんでした。
- 本技術では、分子設計された人工脂質化基質と架橋酵素を用いて、脂質とタンパク質を1 : 1で効率良く連結することに成功しました。

# 従来技術とその問題点

反応溶媒は水が好ましい。



タンパク質：親水性高分子

+

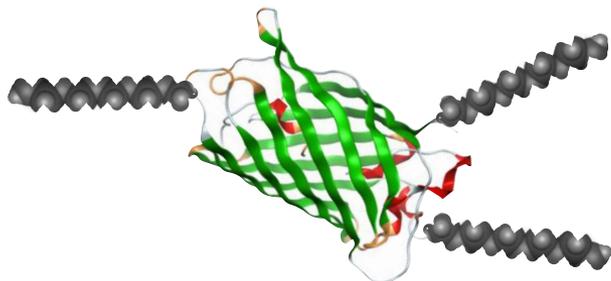


水と馴染ませるには、  
有機溶媒が必要。

脂質：疎水性小分子

?

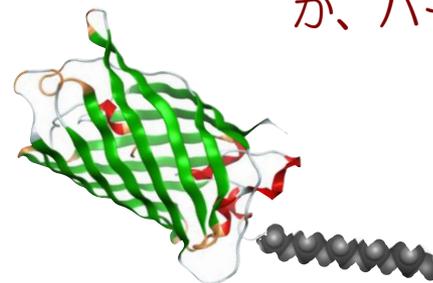
化学修飾は反応点の制御が困難



ランダムな脂質化は、機能低下を招く。

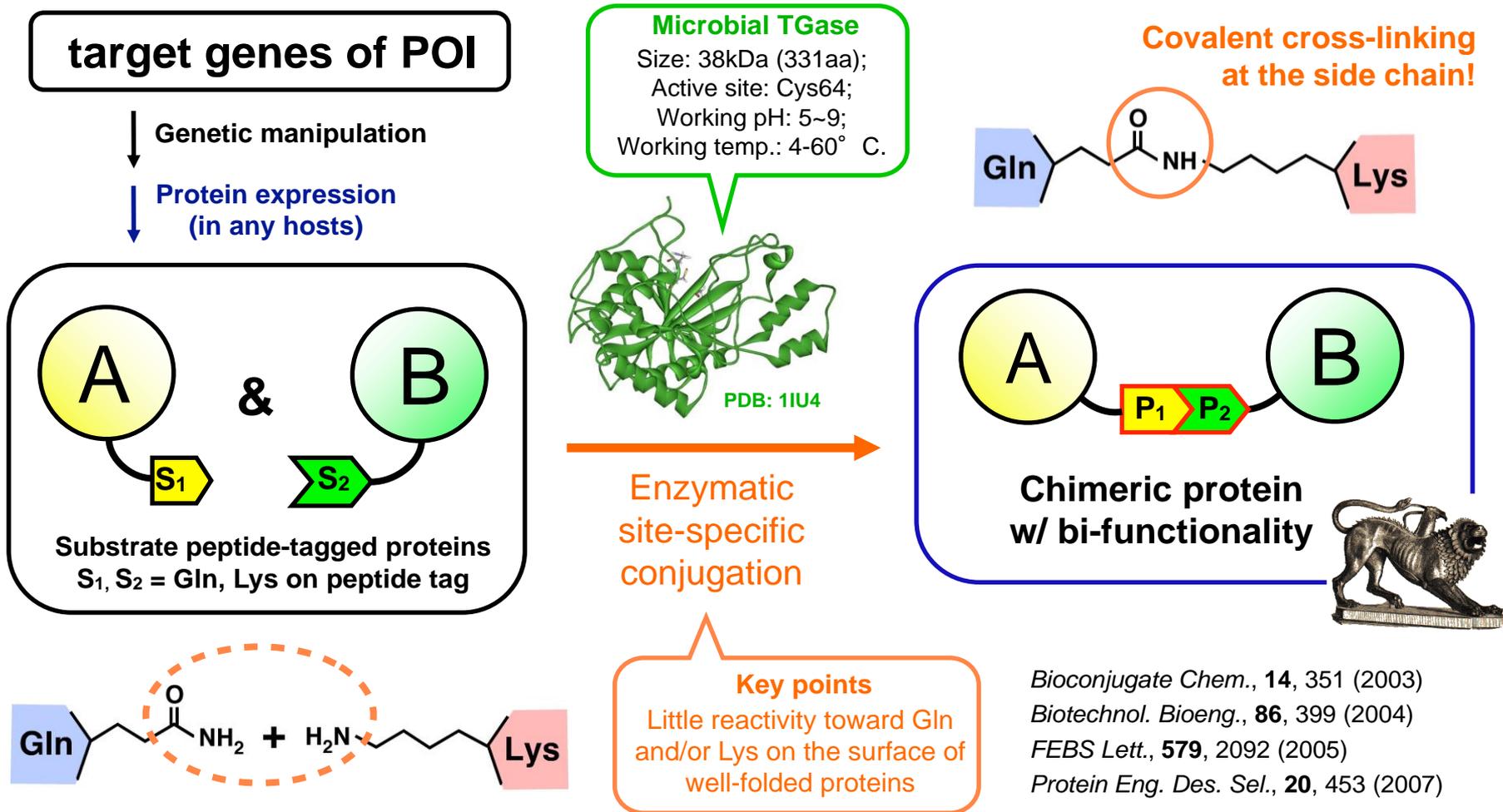
VS.

ピンポイント脂質化が好ましい。  
が、ハードルが高い。



一般的な化学修飾では達成困難。

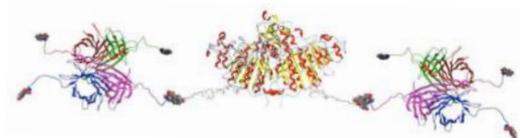
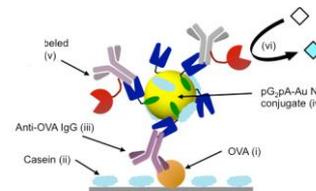
# 我々の既往成果からの展開



*Bioconjugate Chem.*, **14**, 351 (2003)  
*Biotechnol. Bioeng.*, **86**, 399 (2004)  
*FEBS Lett.*, **579**, 2092 (2005)  
*Protein Eng. Des. Sel.*, **20**, 453 (2007)

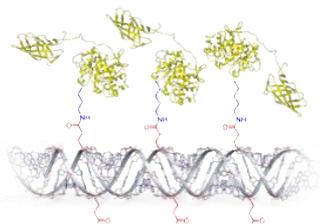
# 我々の既往成果からの展開

## i) Protein Conjugate / Protein Assembly



## ii) Protein-DNA conjugate

### Nucleic acid



Diagnostic kit



### Protein

### Enzymes

Microbial Transglutaminase & Peroxidase & Laccase

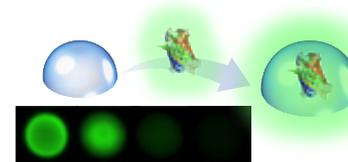
### Synthetic molecules

## iv) Protein-Lipid conjugate

### Lipid



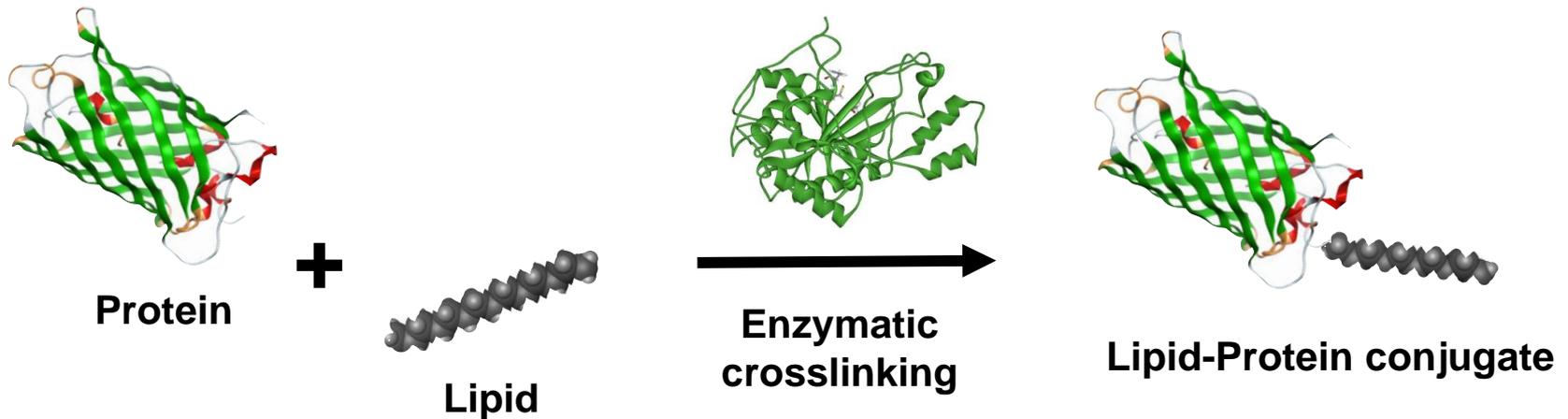
## iii) Functional Hydrogels



酵素触媒を活用した多様なバイオコンジュゲートの設計・提案

# 従来技術の解決法

- 本技術では、酵素反応の基質特異性を活かして、分子設計された人工脂質化基質と架橋酵素を適切に組み合わせ、脂質とタンパク質を1：1で効率良く連結することに成功しました。



## 新技術の特徴・従来技術との比較

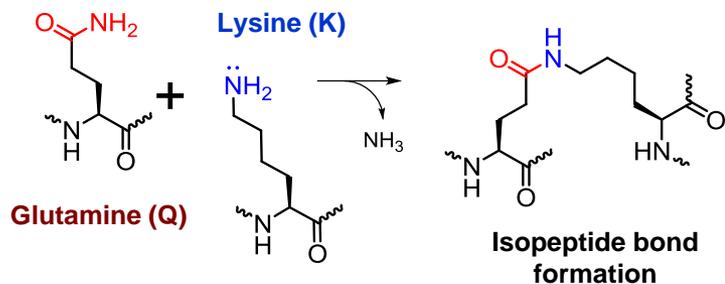
以下の点において、従来の化学修飾法と異なります。

- 脂質と親水性ペプチドをリンクすることで、水に溶解難い脂質を水溶化します。ペプチド部分が架橋用の反応点(A)となります。
- タンパク質側には、遺伝子組換えにより反応性ペプチドタグ(B)を付加し、その後、酵素反応によりA-B間を選択的に架橋します。
- 脂質を溶解するための有機溶媒は不要です。

# 新技術の概要

- 脂質と親水性ペプチドをリンクすることで、水に溶解難い脂質を水溶化します。ペプチド部分が架橋用の反応点(A)となります。

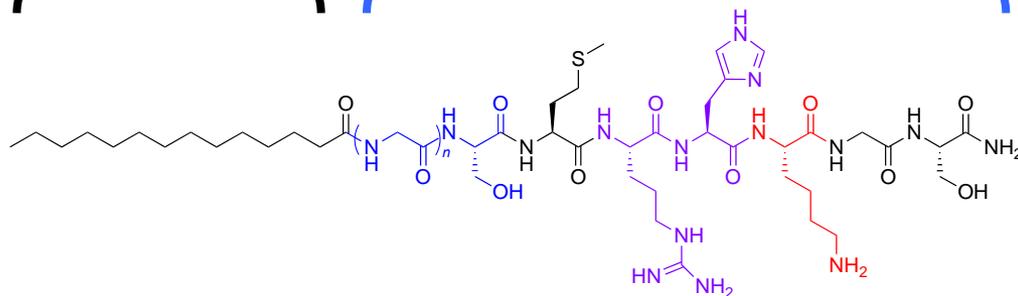
## Reaction scheme of Microbial TGase (MTG)



ペプチド間の架橋には微生物由来トランスグルタミナーゼ MTG を利用します。

多様な脂質を利用可能です。

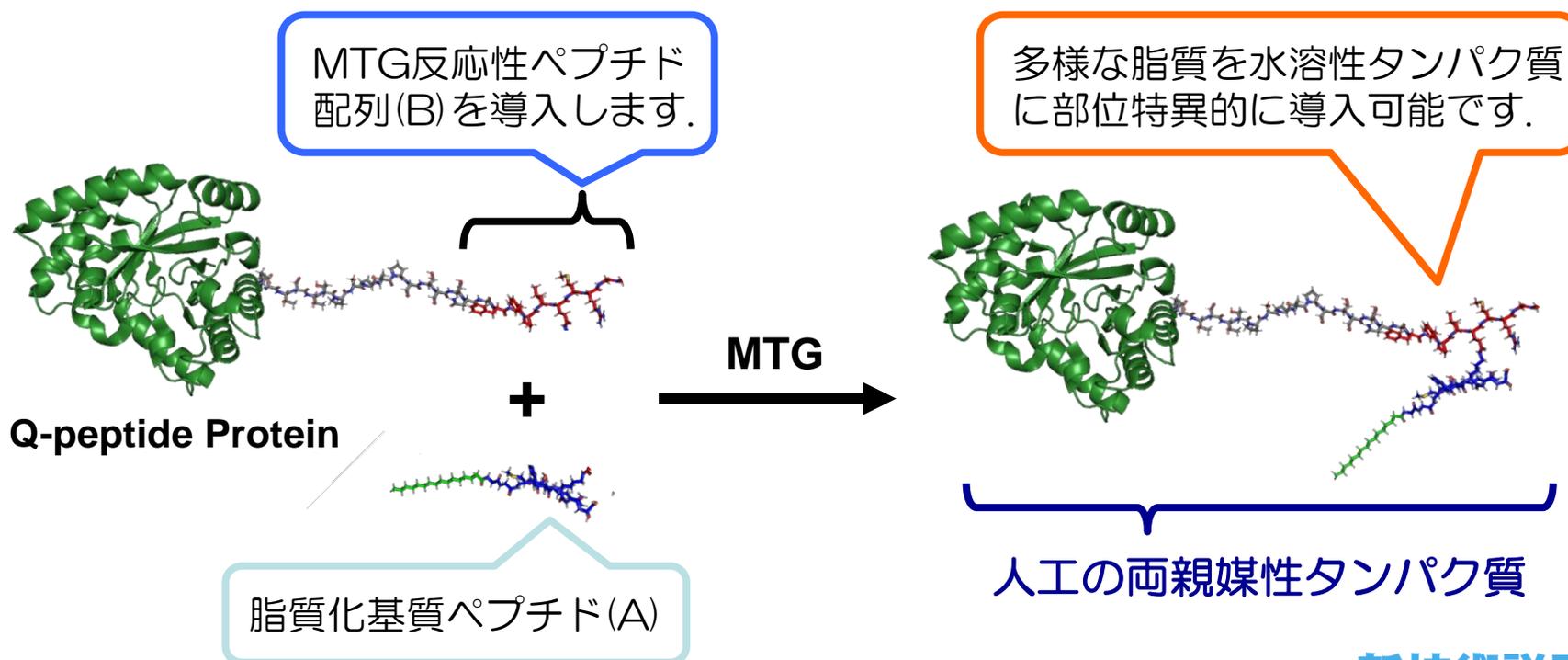
ペプチド部は親水性担保と酵素基質の役割を担います。



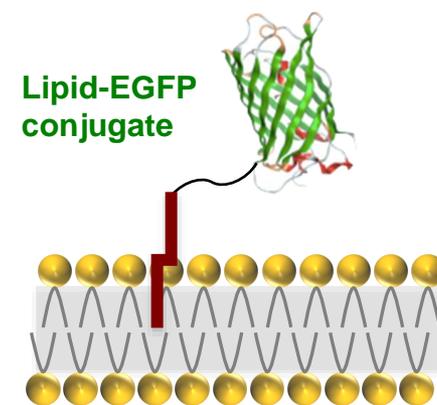
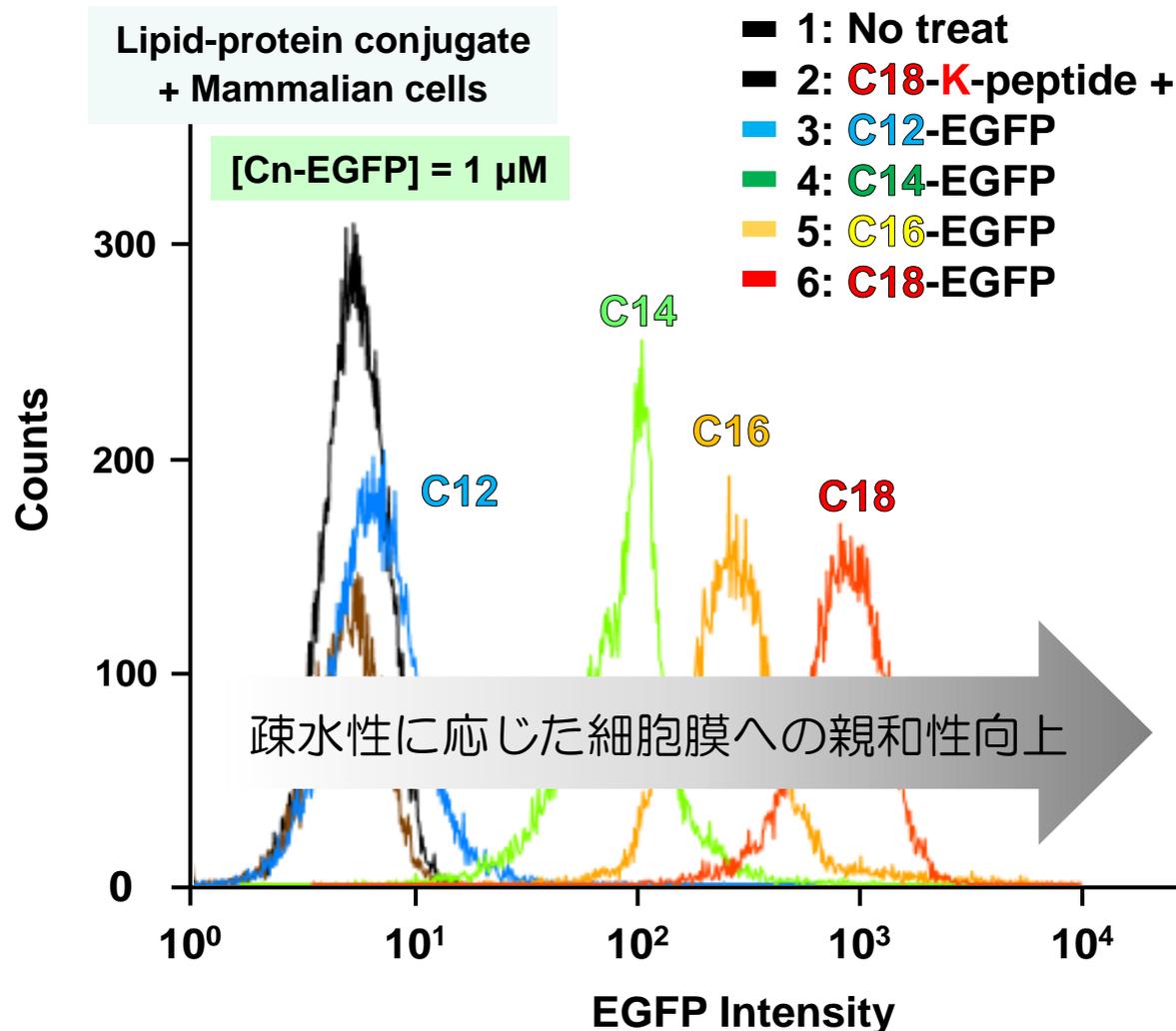
脂質をペプチドのN末端に連結  
**Lipid-(K-peptide) substrate**

# 新技術の概要

- タンパク質側には、遺伝子組換えにより反応性ペプチドタグ(B)を付加し、その後、酵素反応によりA-B間を選択的に架橋します。



# 新技術の実施例



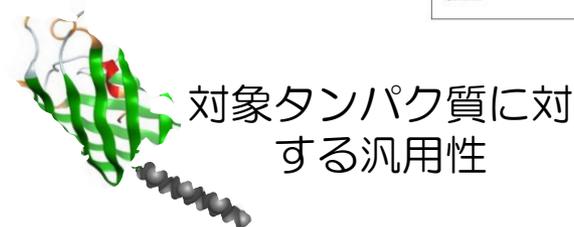
	平均蛍光強度
1	4.4
2	6.1
3	5.4
4	64
5	165
6	872

Based on FACS analysis

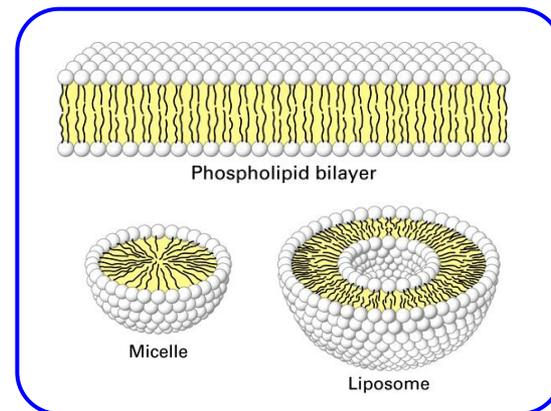
ACS Appl. Bio Mater., 1, 1823-1829 (2018)

# 新技術の実施例

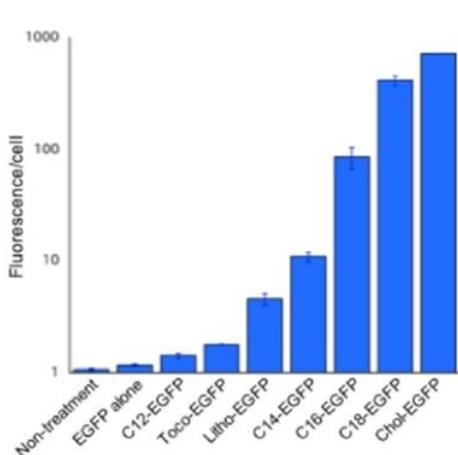
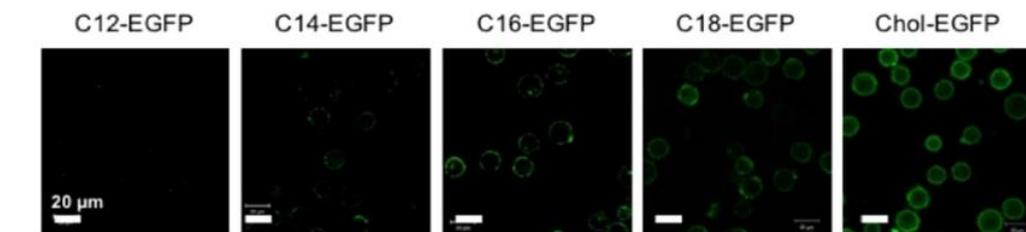
脂質化タンパク質は脂質の性質に応じて異なる細胞表層滞留性を示す。



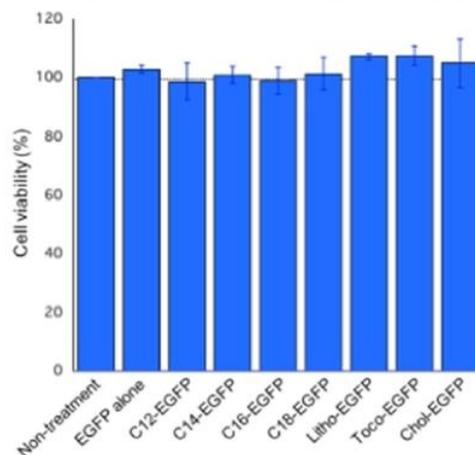
脂質による操作性



様々なバイオ界面への適用性



疎水性の上昇により、細胞膜への親和性向上



精製後は細胞毒性なし

## 新技術の特徴・まとめ

- 水溶性タンパク質に、様々なタイプの脂質を簡便に導入できます。
- 水溶性タンパク質に、脂質の性質に応じた両親媒性を付与できます。
- 水溶性タンパク質を、膜タンパク質のように細胞表面上にアンカリングできます。

 人工の膜タンパク質を簡便に調製可能！

## 想定される用途

- 水溶性タンパク質の人工膜タンパク質化
- 薬理活性を有するタンパク質の高機能化
- 機能性タンパク質の様々なバイオ界面へのアンカリング

## 実用化に向けた課題

- 緑色蛍光タンパク質のようなモデルタンパク質を利用して、概念実証を完了した段階。社会的価値の高いタンパク質へ本手法を適用した実施例を増やす必要がある。
- 汎用性の高い脂質型薬物送達キャリアとの組み合わせによる応用を検討中。

## 企業への期待

- 脂質の導入による薬理活性・体内動態の改変については、既往の研究から実現可能性が高いと考えています。本技術は、導入位置や導入数の制御も可能な点に強みがあります。
- タンパク質製剤を含む水溶性薬物のシーズを有し、本技術との融合による新たな可能性を追求できる素材や技術を有する企業との共同研究連携やライセンス契約を希望します。

# 本技術に関する知的財産権

発明の名称：脂質化タンパク質の製造  
方法、及び脂質化タンパク質

出願番号：PCT/JP2019/003695

出願人：九州大学

発明者：神谷典穂、若林里衣、  
南畑孝介、高原茉莉

# 産学連携の経歴

2008年-2010年

JST重点地域研究開発推進プログラム

（徳島大学、アロカ株式会社と共同研究実施）

2009年-2012年

NEDOバイオマスエネルギー先導技術研究開発

（神戸大学、株式会社豊田中央研究所と共同研究実施）

2012年

JST研究成果最適展開支援プログラム A-STEP

（日立アロカメディカル株式会社と共同研究実施）

2011年-2014年 JST-ALCA事業に採択

2018年4月 KAICO株式会社起業（発起人）

# お問い合わせ先

九州大学学術研究・産学官連携本部  
知的財産グループ

T E L    092-802-5137

F A X    092-802-5145

e-mail    [transfer@airimaq.kyushu-u.ac.jp](mailto:transfer@airimaq.kyushu-u.ac.jp)