

トランスグルタミナーゼ基質を用いた修飾タンパクの作製方法

埼玉大学 大学院理工学研究科
物質科学部門 物質機能領域
助教 松下 隆彦

令和2年7月14日

従来技術とその問題点

既に実用化されているタンパク質の修飾法には、
化学法や酵素法があるが、

化学法は修飾部位がランダム

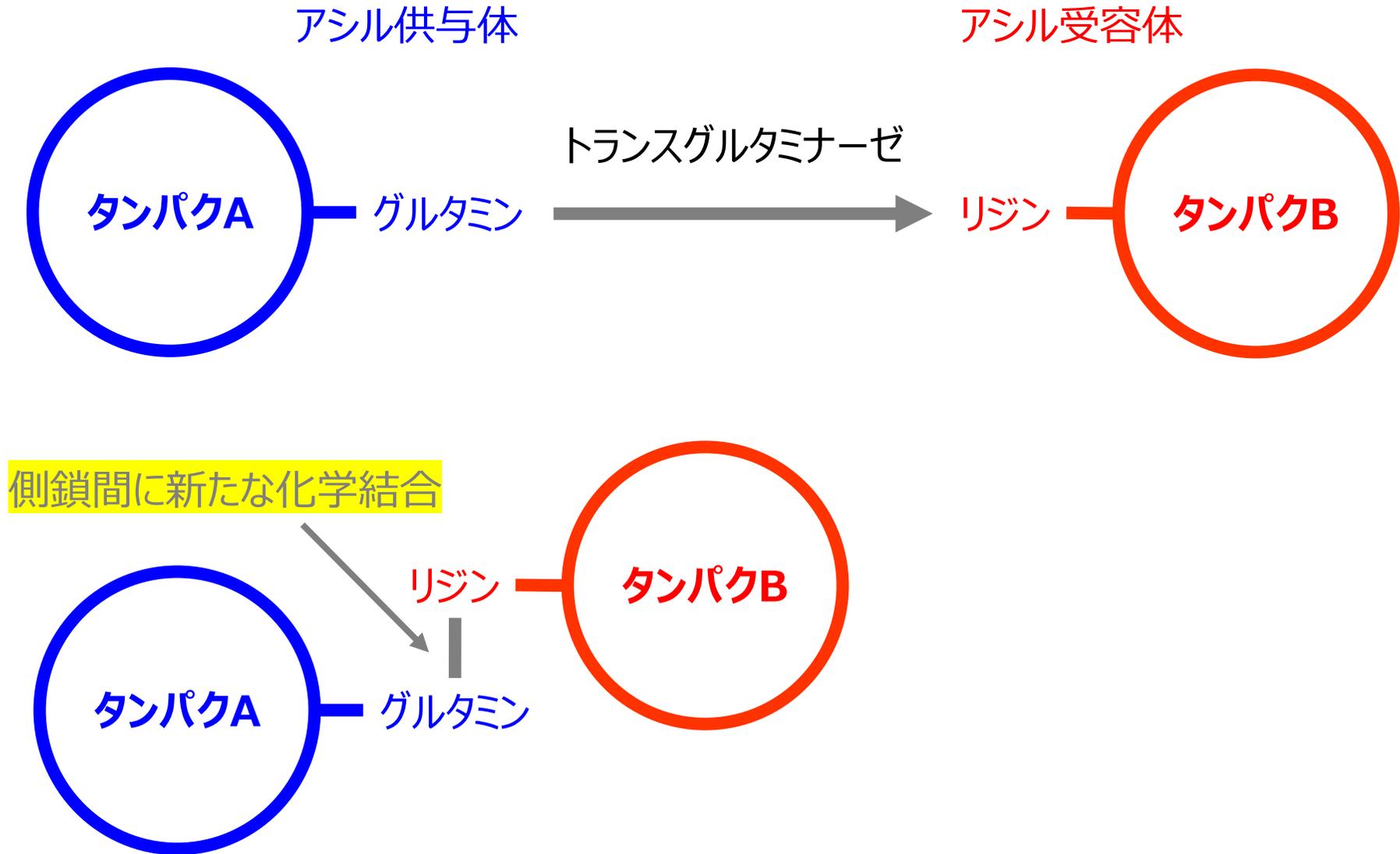
酵素法は修飾分子の許容範囲が狭い

等の問題があり、改善が望まれていた。

新技術の特徴・従来技術との比較

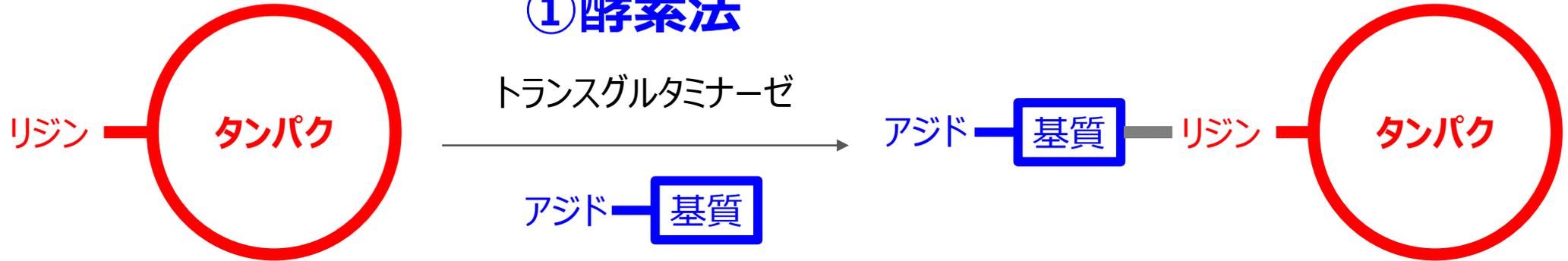
- 従来技術の問題点であった、修飾タンパクの作製法を改良することに成功した。
- 従来の酵素基質は酵素法での使用に限られていたが、アジド基を含有した酵素基質を開発できたため、化学法と組み合わせた修飾タンパクの作製が可能となった。
- 本技術の適用により、タンパクに修飾可能な分子の範囲が拡大できるため、修飾タンパク質の設計自由度が高まることが期待される。

トランスグルタミナーゼはタンパク架橋酵素



酵素法と化学法を組み合わせた 二段階の修飾タンパク作製法

① 酵素法



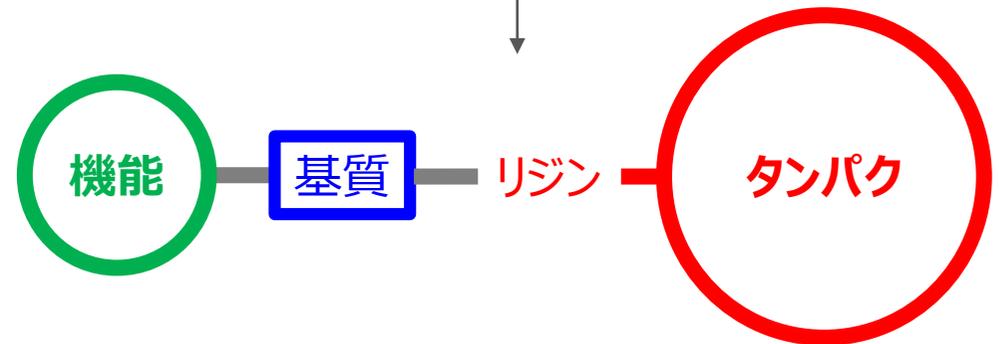
タンパク
(アシル受容体)

アジド含有基質
(アシル供与体)



② 化学法

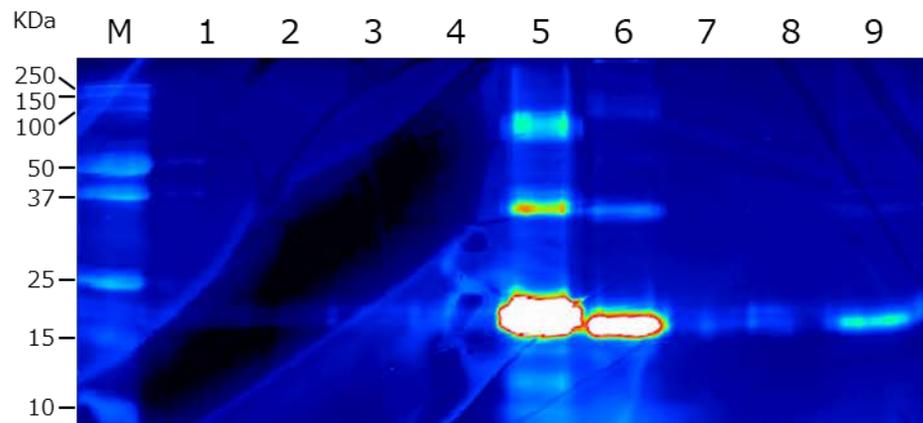
アジド-アルキン付加環化



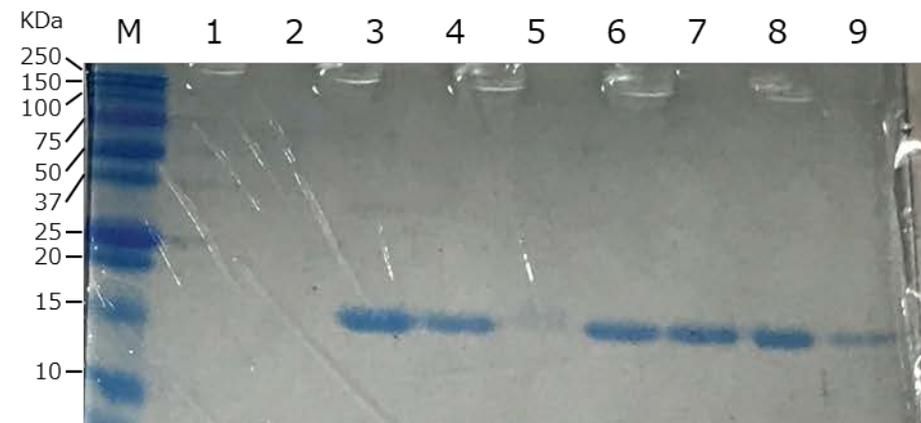
修飾タンパク作製例) 蛍光標識アビジン



条件	1	2	3	4	5	6	7	8	9
トランスグルタミナーゼ	+	-	-	+	+	-	-	+	+
アジド含有酵素基質	-	+	-	+	+	+	+	-	-
アビジン	-	-	+	+	+	+	+	+	+
アルキン含有蛍光分子	-	-	-	-	+	+	-	-	+



CBB染色前の蛍光ゲルイメージ



CBB染色後のゲルイメージ

*蛍光修飾されたアビジンは染色されにくい (レーン 5)

想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、機能性タンパクの製造に適用することで機能導入を簡便化できるメリットが大きいと考えられる。
- アジド化タンパクを利用することで複数機能を併せ持つ修飾タンパクの作製も期待される。
- また、当該基質はタンパク以外のアミノ基含有物質にも酵素転移されうることに着目すると、研究用試薬から医薬品といった分野や用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、修飾タンパクの二段階作製が可能なところまで開発済み。しかし、詳細な修飾条件の設定は未解決である。
- 今後、タンパク修飾の効率や位置について実験データを取得し、均質な機能性タンパクを効率的に作製するための条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、修飾タンパクの効果的な精製技術を確立する必要もあり。

企業への期待

- 未解決の修飾タンパクのキャラクタリゼーションについては、構造解析等の技術により克服できると考えている。
- タンパク質製造や構造解析の技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、機能的タンパクを開発中の企業、医薬品分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : トランスグルタミナーゼ基質
- 出願番号 : 特願2019-174370
- 出願人 : 国立大学法人 埼玉大学
- 発明者 : 高野凌、幡野健、松下隆彦、松岡浩司

産学連携の経歴

- 2008年-2013年 住友ベークライト社と共同研究
- 2018年-2019年 JST研究成果展開事業(A-STEP
機能検証フェーズ)に採択

お問い合わせ先

埼玉大学

オープンイノベーションセンター

TEL ; 048-858-3849

FAX ; 048-858-9419

e-mail coic-jimu@ml.saitama-u.ac.jp