

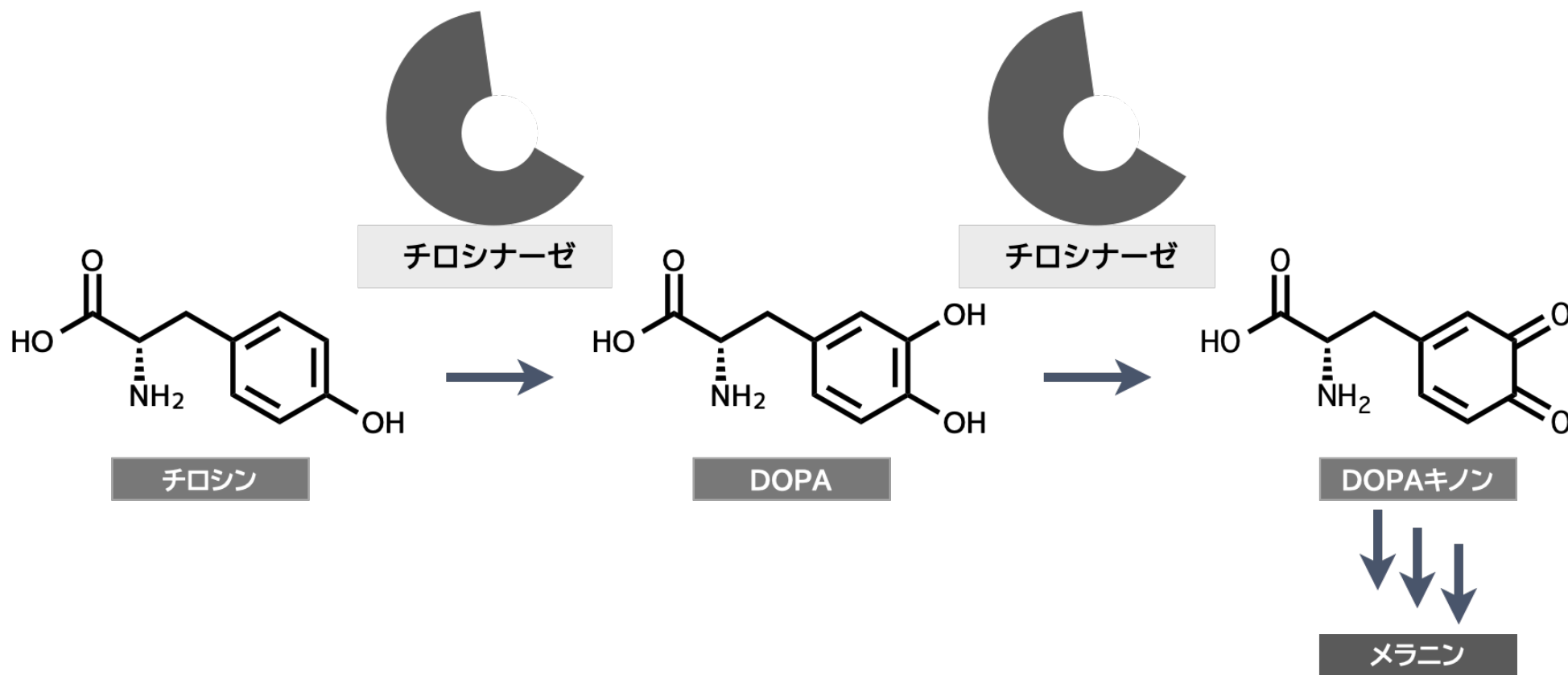
新規タンパク質架橋酵素の開発と利用

岐阜大学 工学部 化学・生命工学科
准教授 大野 敏

2023年 8月 8日

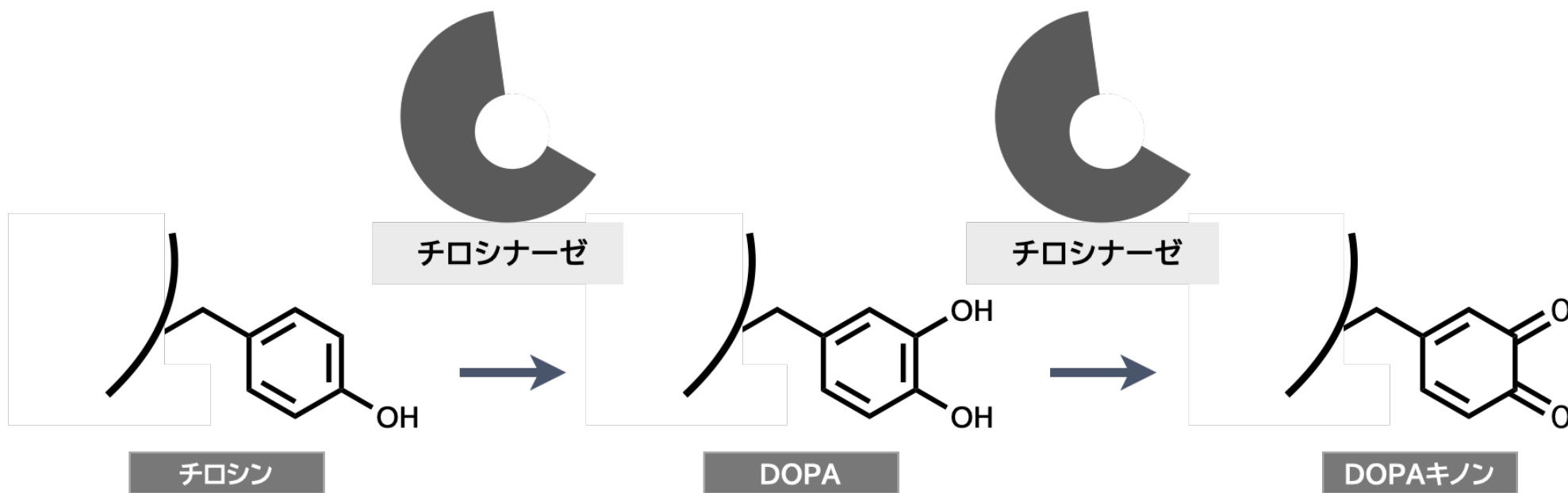
技術背景

- チロシナーゼはチロシンをDOPAやDOPAキノンへ変換



技術背景

- タンパク質内チロシンもDOPAやDOPAキノンへ変換可能

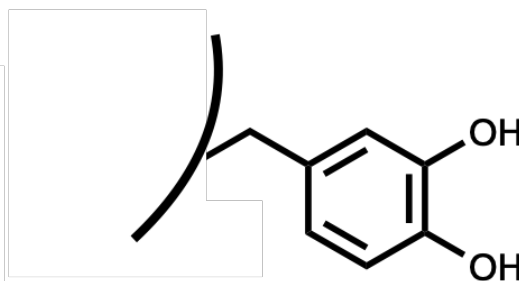
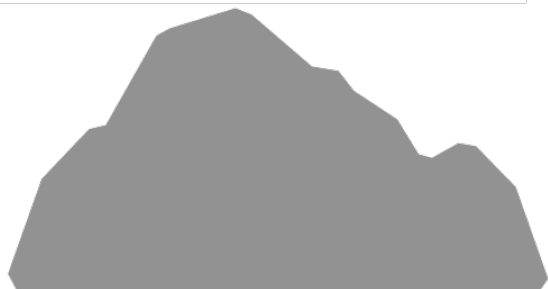


技術背景

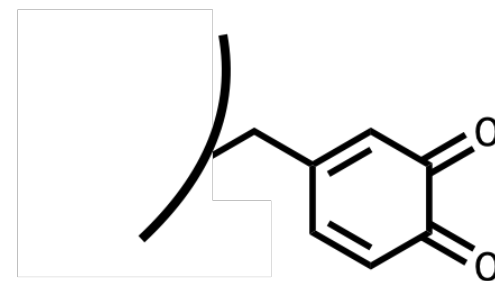
- ・ DOPAなどは貝などの接着タンパク質に含まれ、架橋・接着に関与



貝の岩場への接着



DOPA

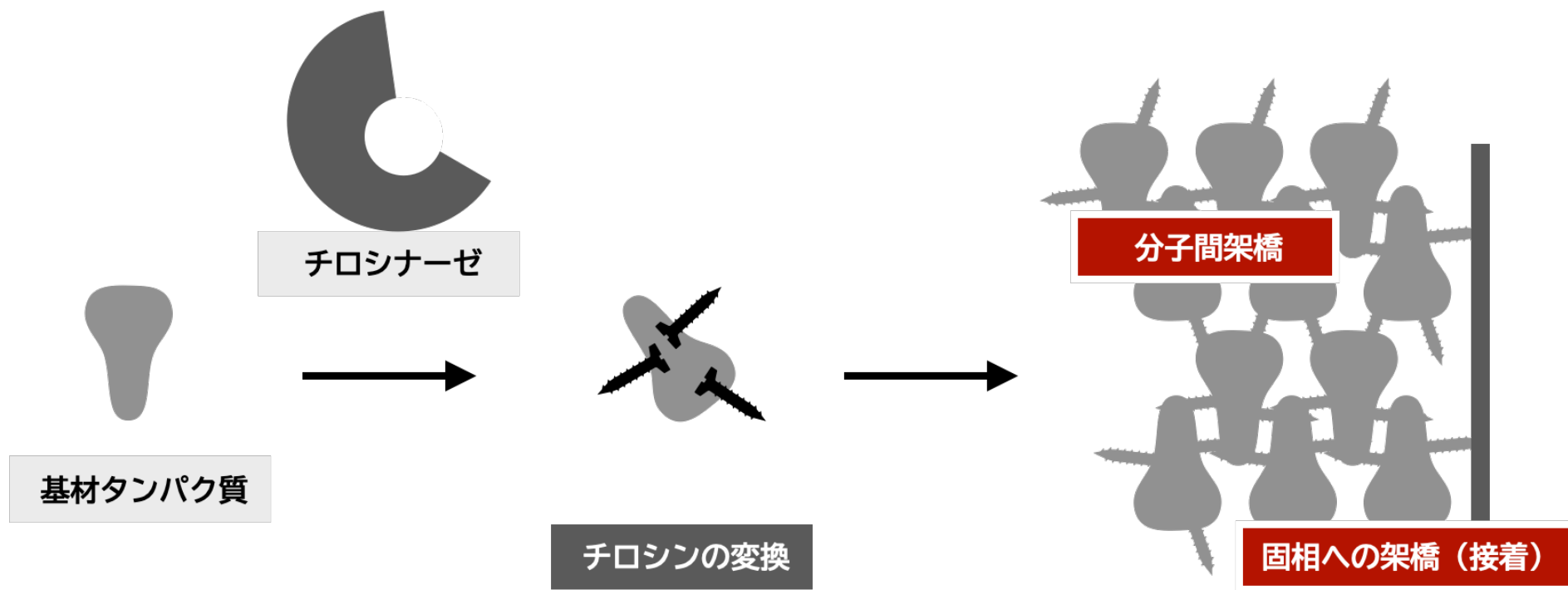


DOPAキノン

架橋・接着に寄与

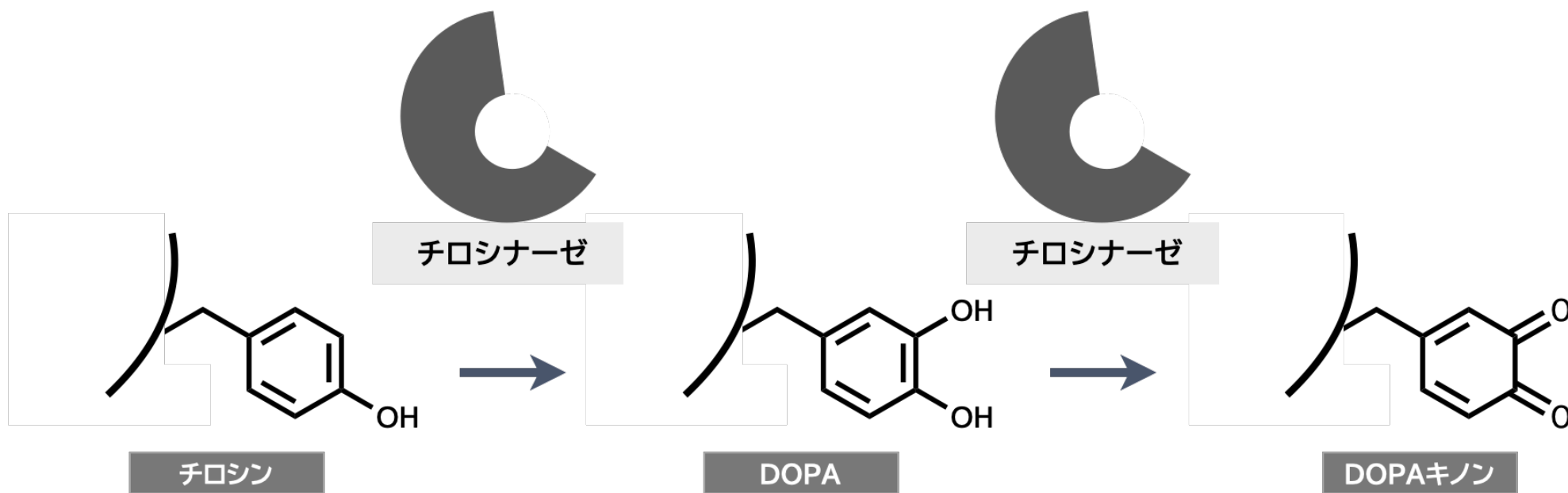
技術背景

チロシナーゼによりタンパク質内チロシンをDOPAやDOPAキノンへ変換し架橋・接着反応を利用して、タンパク質を接着剤・粘着剤として利用したい



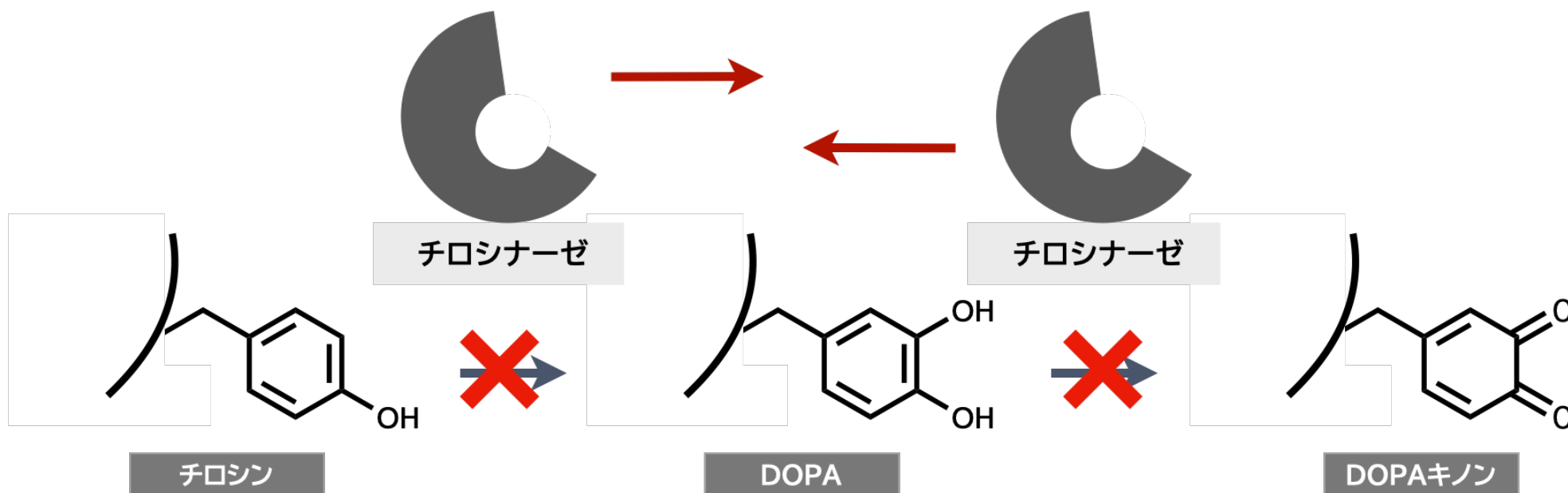
技術背景

- チロシナーゼによりチロシンをDOPAやDOPAキノンへ変換

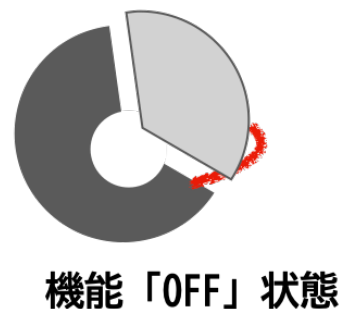
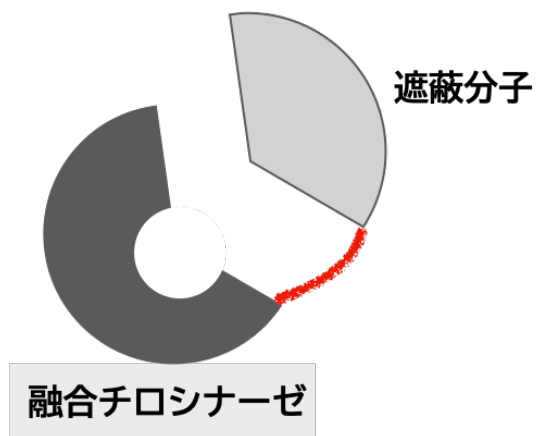


従来技術とその問題点

- チロシナーゼ同士の反応により重合するなどし、
チロシナーゼは不活化しやすい

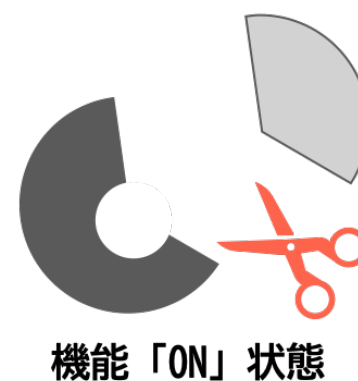


新技術の特徴・従来技術との比較



チロシナーゼの **活性部位を覆うような分子** を
リンカー配列で**融合**し **機能を抑制**

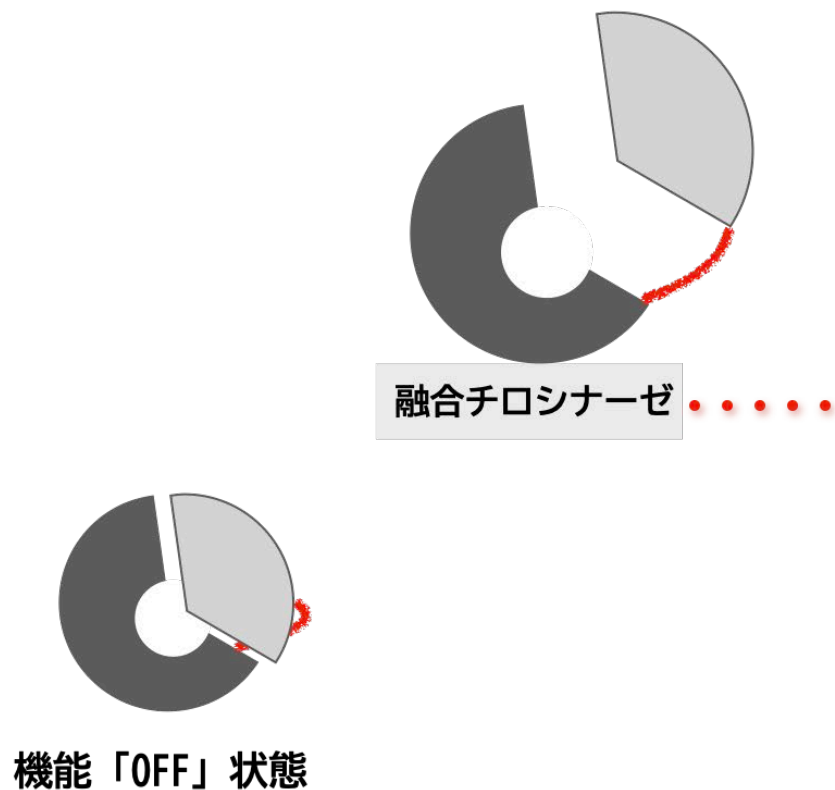
→ **保存安定性の向上**



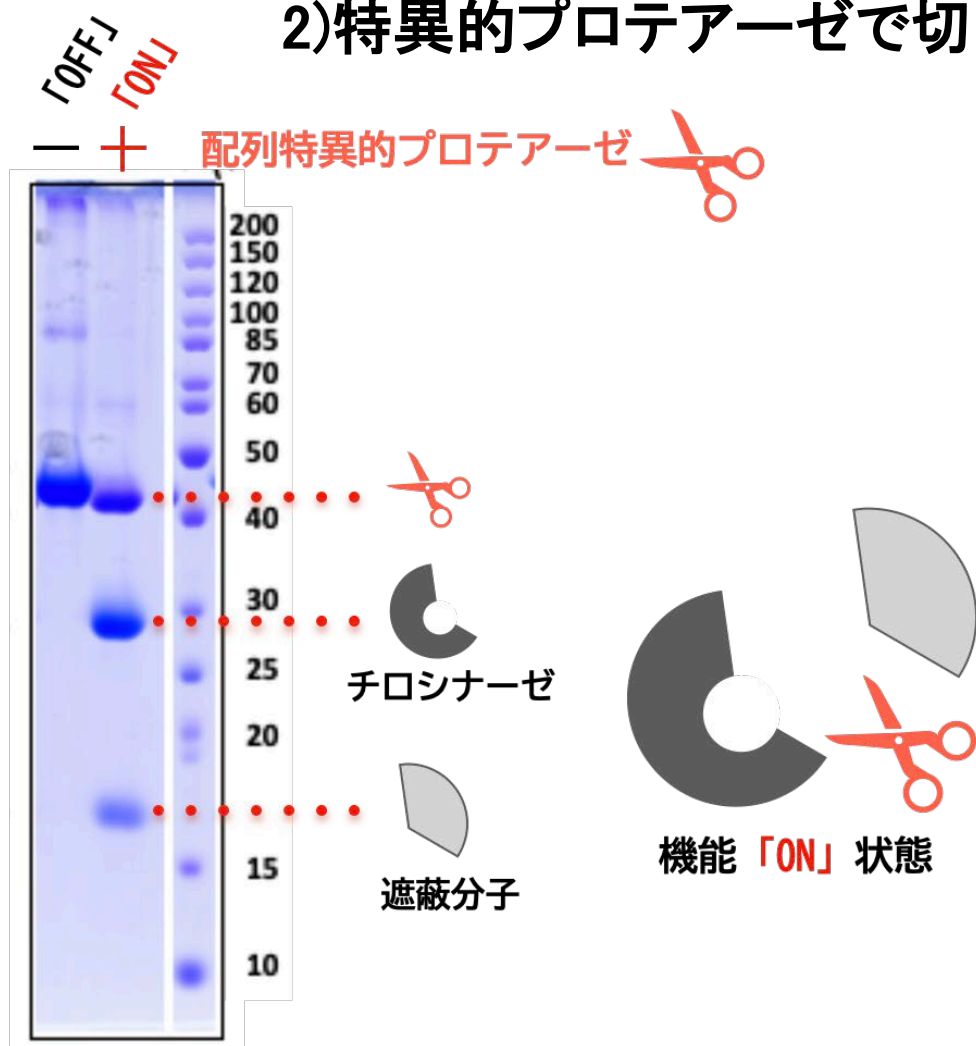
配列特異的プロテアーゼで切断 することで **反応開始**

新技術の特徴・従来技術との比較

1) 融合チロシナーゼを産生

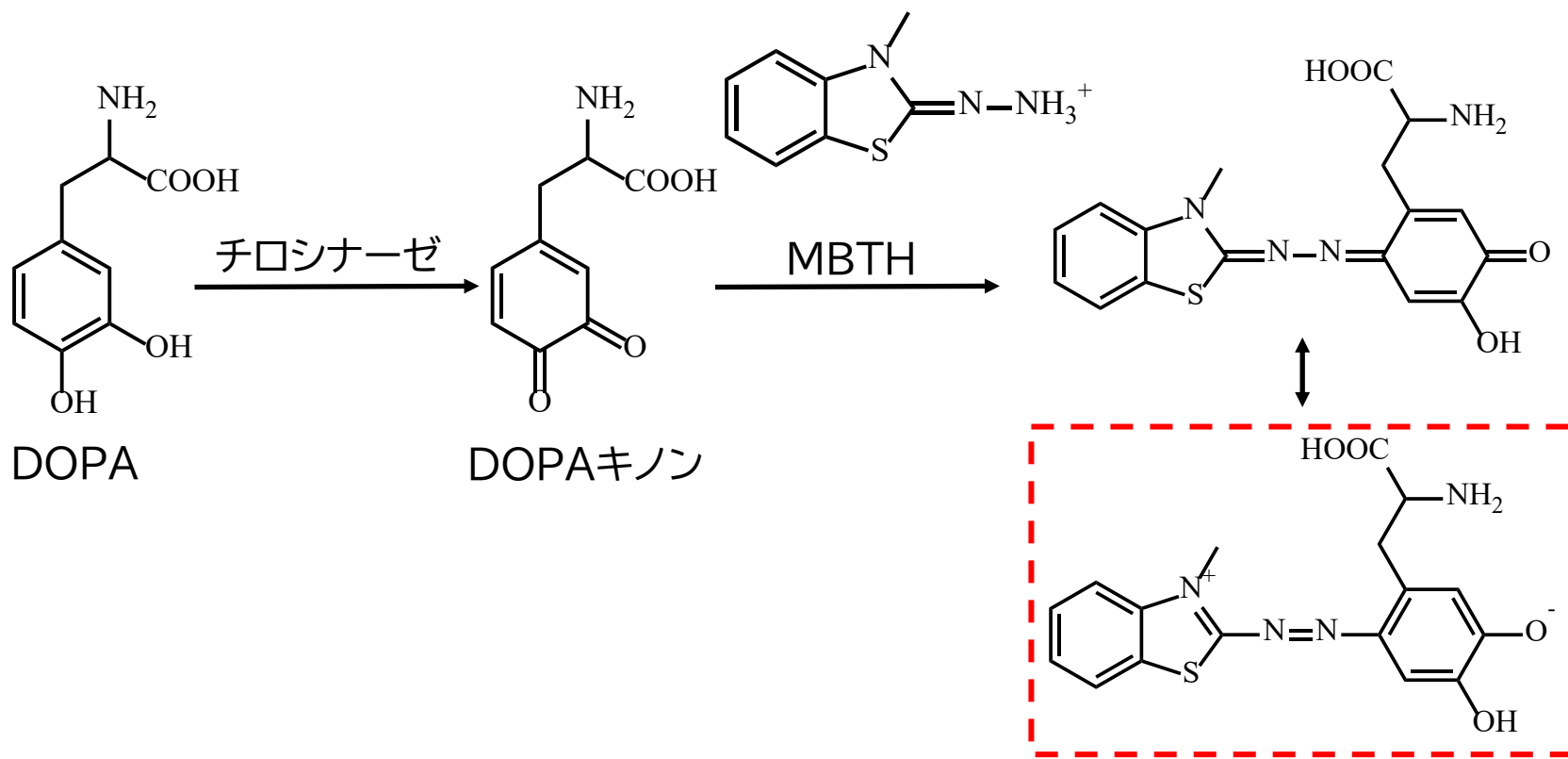


2) 特異的プロテアーゼで切断



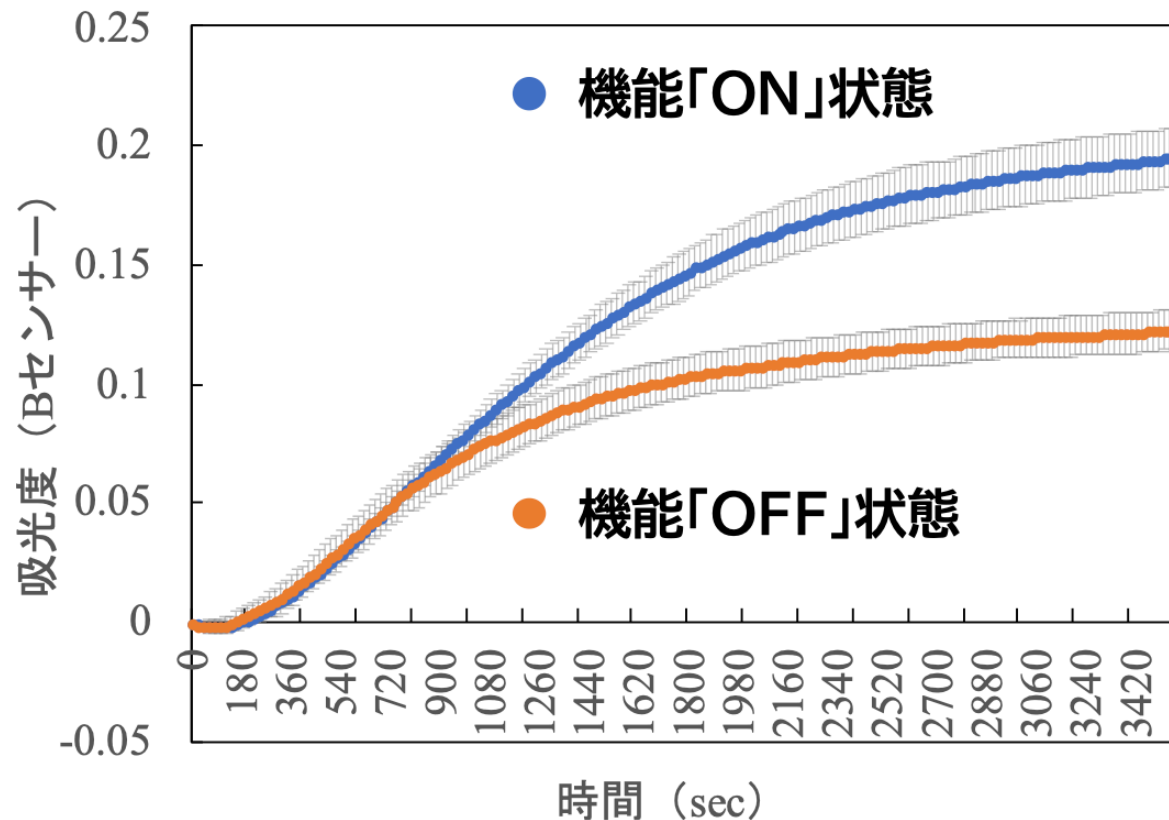
新技術の特徴・従来技術との比較

- ・ DOPAを基質としたチロシナーゼ活性
DOPAキノンとMBTHによる呈色反応を利用し、吸光度測定で評価



新技術の特徴・従来技術との比較

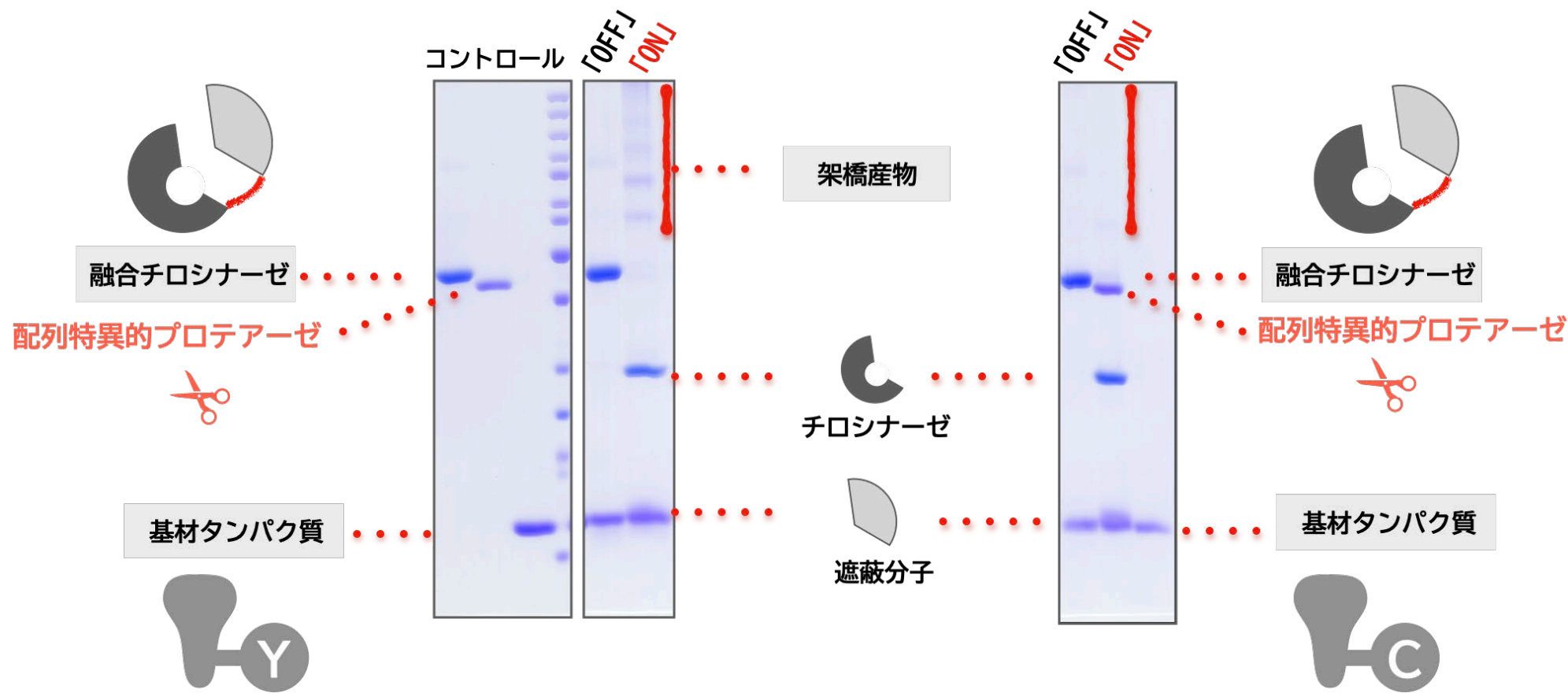
- ・ DOPAを基質としたチロシナーゼ活性
DOPAキノンとMBTHによる呈色反応を利用し、吸光度測定で評価



新技術の特徴・従来技術との比較

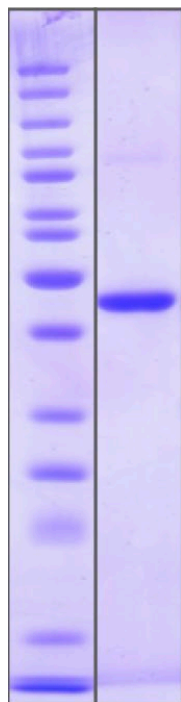
- 架橋反応例1
(C末端チロシン基材タンパク質)

- 架橋反応例2 (比較例)
(C末端システイン基材タンパク質)

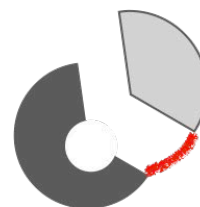
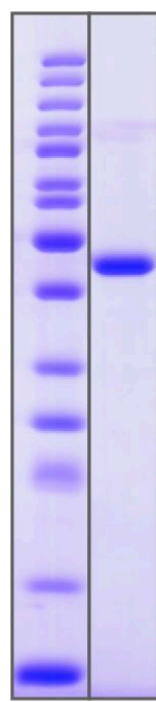


新技術の特徴・従来技術との比較

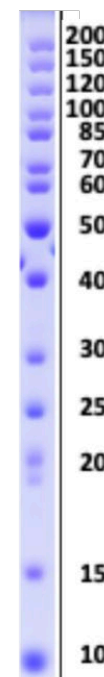
・ 精製直後



・ 精製3ヶ月後



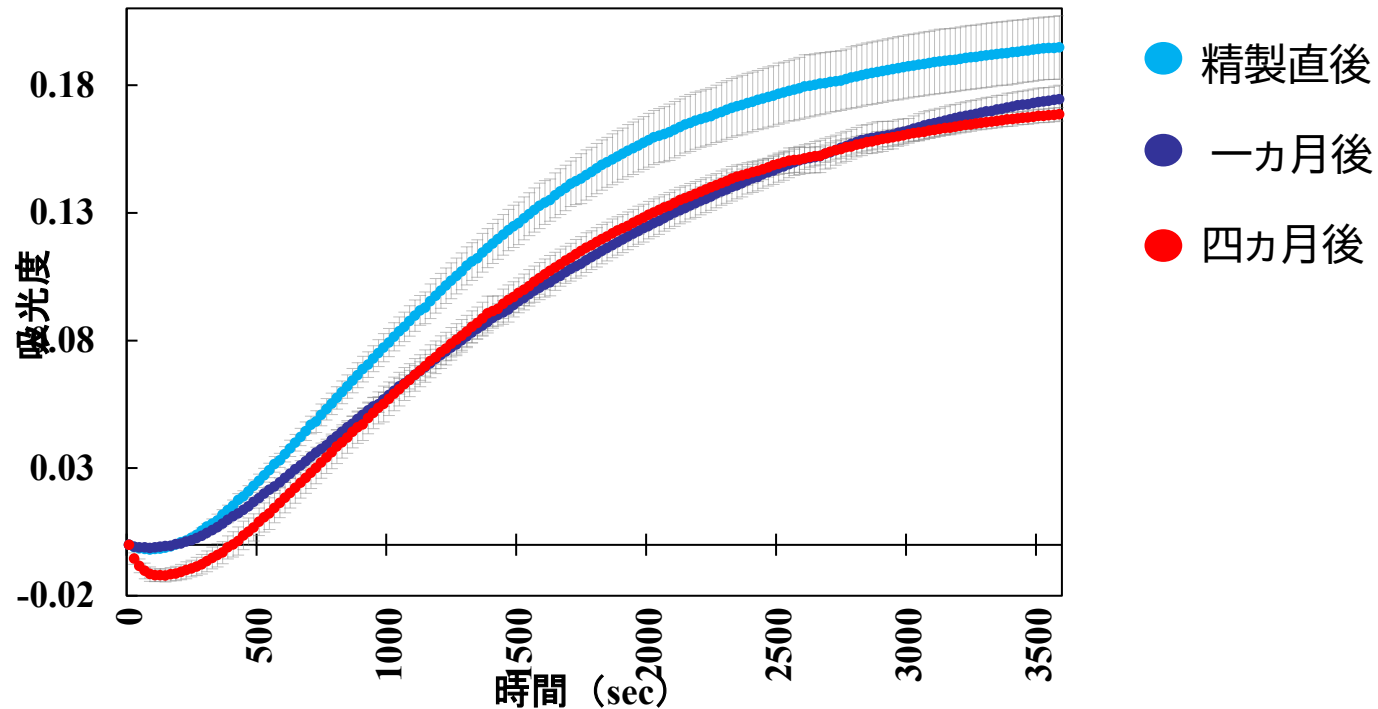
融合チロシナーゼ



→ 保存中にチロシナーゼ同士の架橋形成は起きない
少なくとも3ヶ月は安定に保存可能である

新技術の特徴・従来技術との比較

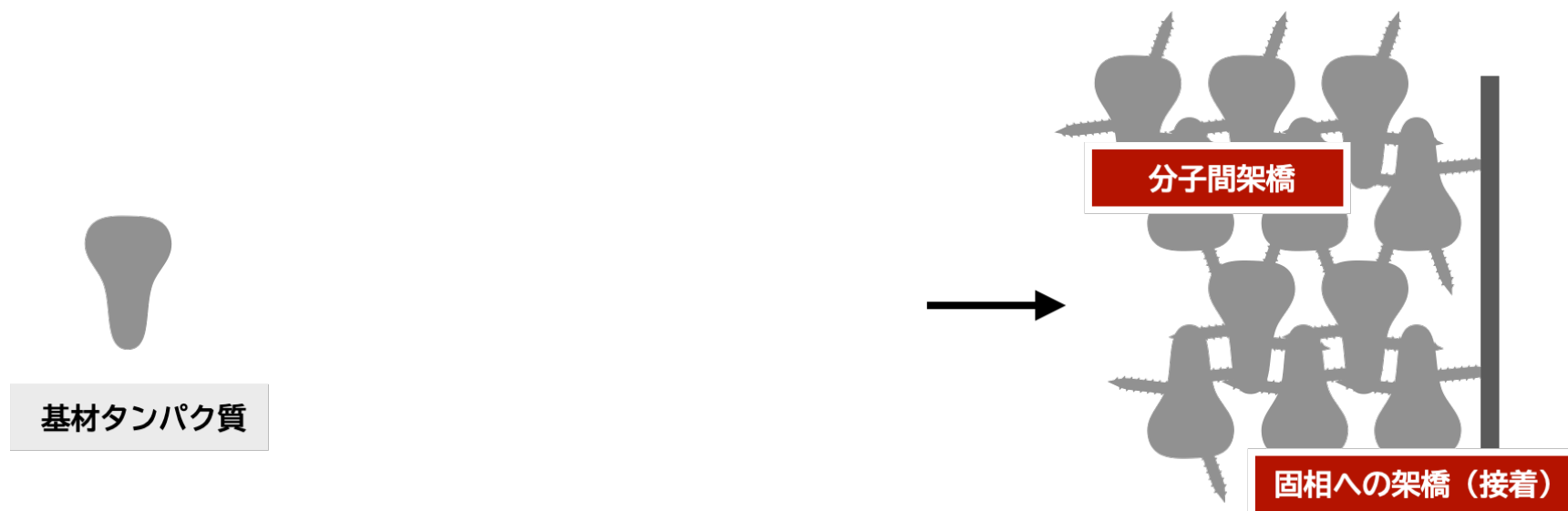
- ・ DOPAを基質としたチロシナーゼ活性（ON状態）



→ 精製から4ヶ月後でも活性に影響なし

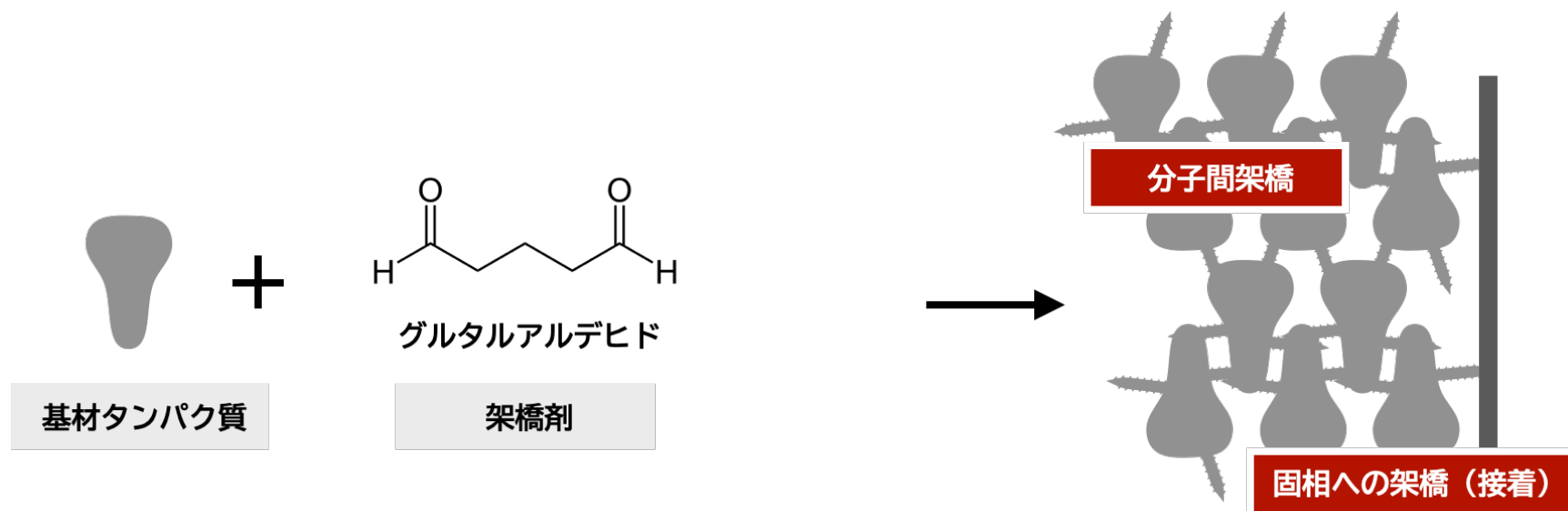
想定される用途

- ・ タンパク質成分を用いた接着剤、粘着剤、絆創膏



想定される用途 従来技術とその問題点

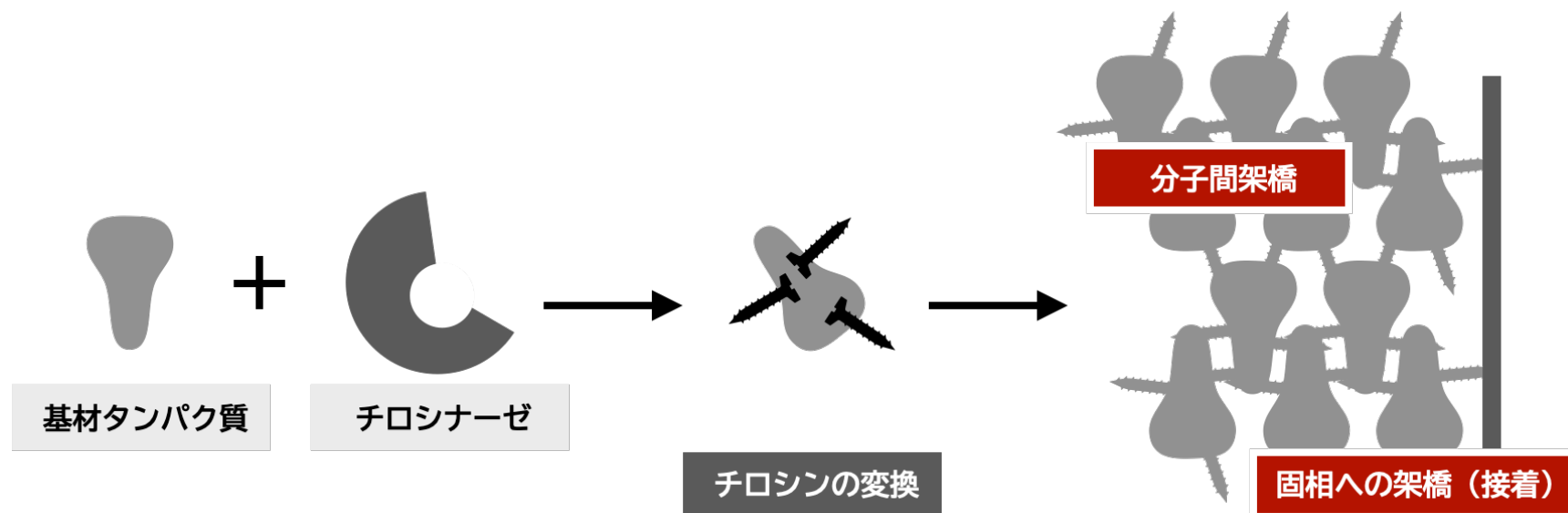
- ・ タンパク質成分を用いた接着剤、粘着剤、絆創膏



→ 残存したアルデヒド化合物による生体毒性発現の危険性がある

想定される用途 新技術の特徴

- ・ タンパク質成分を用いた接着剤、粘着剤、絆創膏



架橋反応にチロシナーゼを用いることで、タンパク質のみから構成

→ 化学物質を含まない、生体にとって安全・安心な接着剤を提供

医療機器業界、建設業界、食品業界、化粧品業界などでの利用を期待

実用化に向けた課題（1）

- 保存安定性の検証、産業利用に向けた大量調製



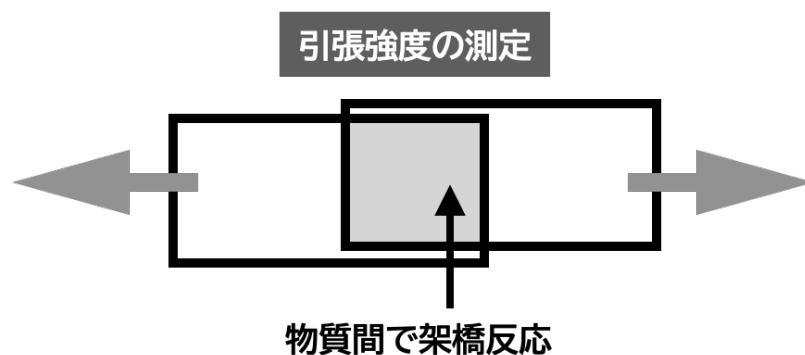
実用化に向けた課題（2）

○ 強度等の検証



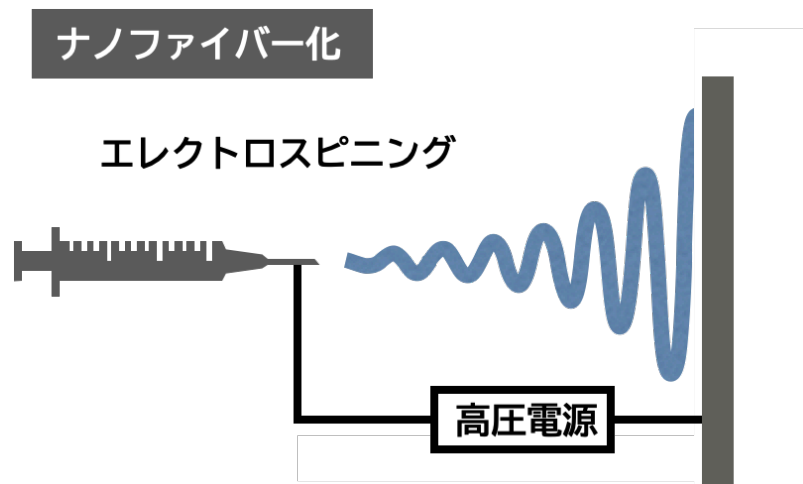
企業への期待（1）

- 保存安定性の検証、産業利用に向けた大量調製
 - 4ヶ月後までは安定に保存可能（検証実施中）
 - 各種用途に合わせた調製、販売
- 強度等の検証
 - 各種用途に合わせた強度測定（一部実施中）

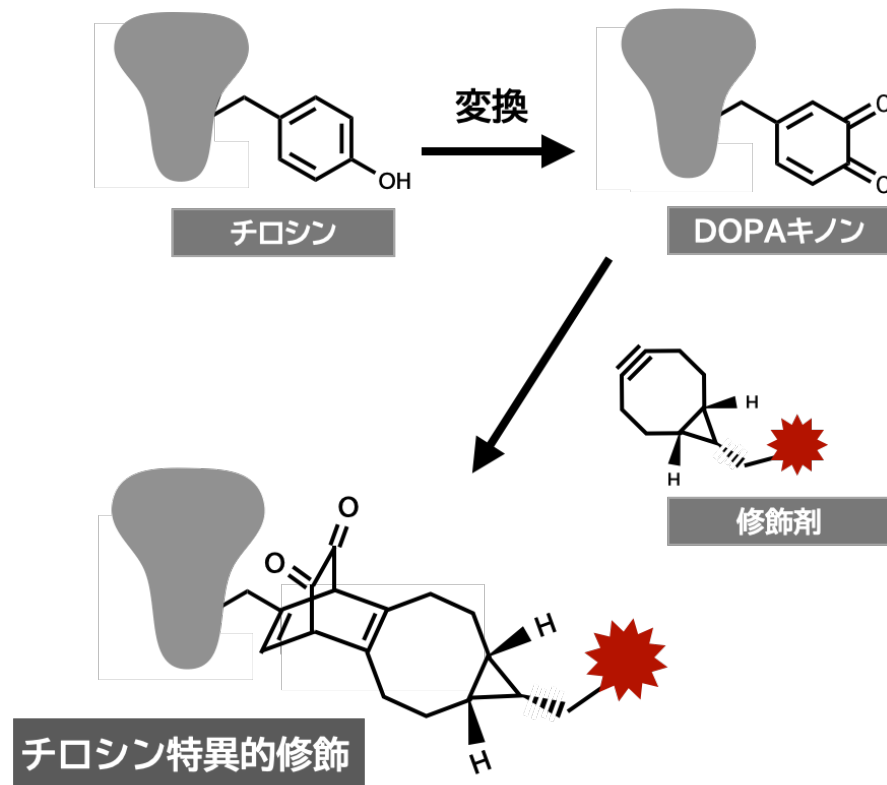


企業への期待 (2)

- タンパク質のナノファイバー化
および強靱化



- チロシン残基特異的な
タンパク質修飾キット化



本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 銅運搬タンパク質融合
チロシナーゼ及びその利用
- 出願番号 : 特願2022-202177
- 出願人 : 国立大学法人東海国立大学機構
- 発明者 : 大野 敏

お問い合わせ先

国立大学法人東海国立大学機構

岐阜大学 学術研究・産官学連携推進本部

産官学連携推進部門 知的財産担当

TEL 058-293-2034

FAX 058-293-2032

e-mail sangaku@t.gifu-u.ac.jp