

タグ抗体でお悩みのあなた！
新しいシステムができました

島根大学 医学部 医学科・生化学講座

Urano Takeshi
教授 浦野 健

タグシステムってなに？

- 目的タンパク質に融合させて発現させるアミノ酸配列（タグ）とそのアミノ酸配列を特異的に認識するモノクローナル抗体の組み合わせ。

タグシステムってなに？

- 目的タンパク質に融合させて発現させるアミノ酸配列（タグ）とそのアミノ酸配列を特異的に認識するモノクローナル抗体の組み合わせ.
- ウェスタンブロット、免疫沈降、免疫細胞染色、タンパク質精製やタンパク質間相互作用検出など分子生物学的手法に広く用いられている.

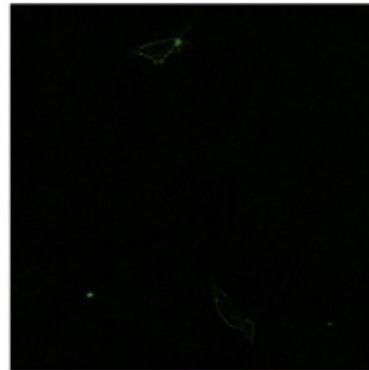
代表的なタグシステム

名称	アミノ酸配列	代表的な モノクローナル抗体
FLAG	DYKDDDDK	M2
c-Myc	EQKLISEEDL	9E10
HA	YPYDVPDYA	12CA5

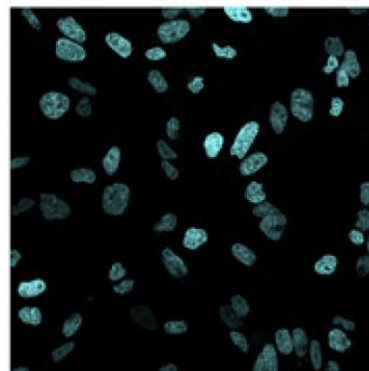
従来のタグシステムとその問題点

- 目的タンパク質の細胞内局在によって、抗体がタグ融合タンパク質を検出できないことがある。

抗FLAG抗体
(M2)



核染色
(DAPI)



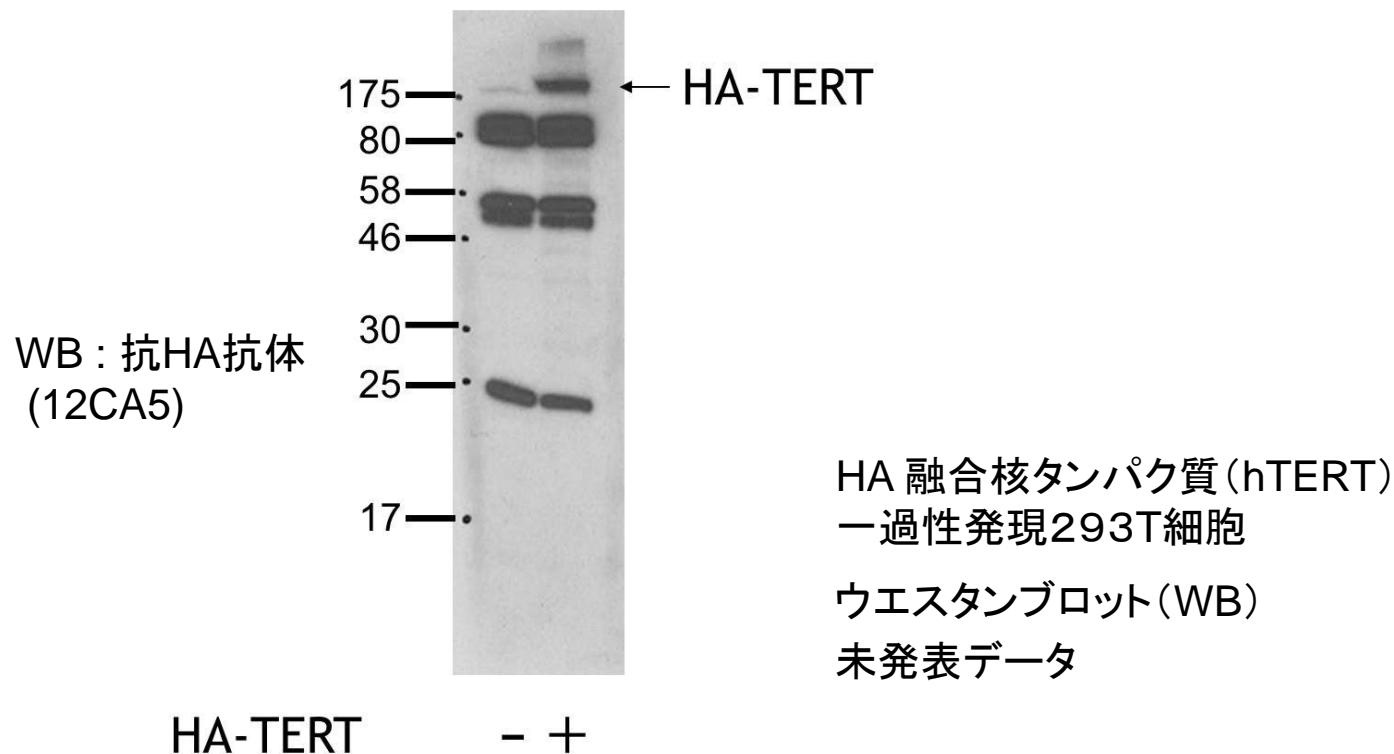
FLAG 融合膜タンパク質 (hS1P1)
安定発現CHO細胞株

免疫細胞染色

Sasaki F., *et al.*, *Anal. Biochem.*
425: 157-165, 2012

従来のタグシステムとその問題点

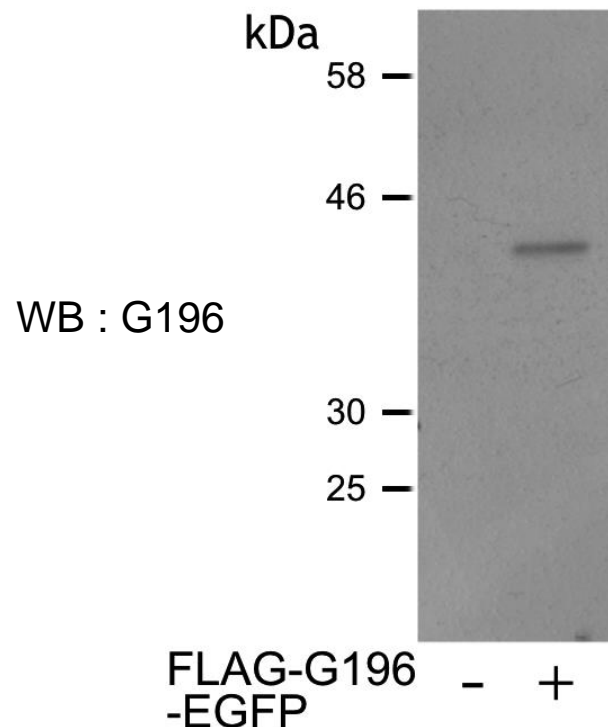
- ウエスタンブロットでバックグラウンドが高いタグシステムがある。



新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

- ・ウエスタンブロットが可能であり、かつバックグラウンドが非常に低い。



FLAG-G196 融合タンパク質(EGFP)
一過性発現HeLa細胞

ウエスタンブロット

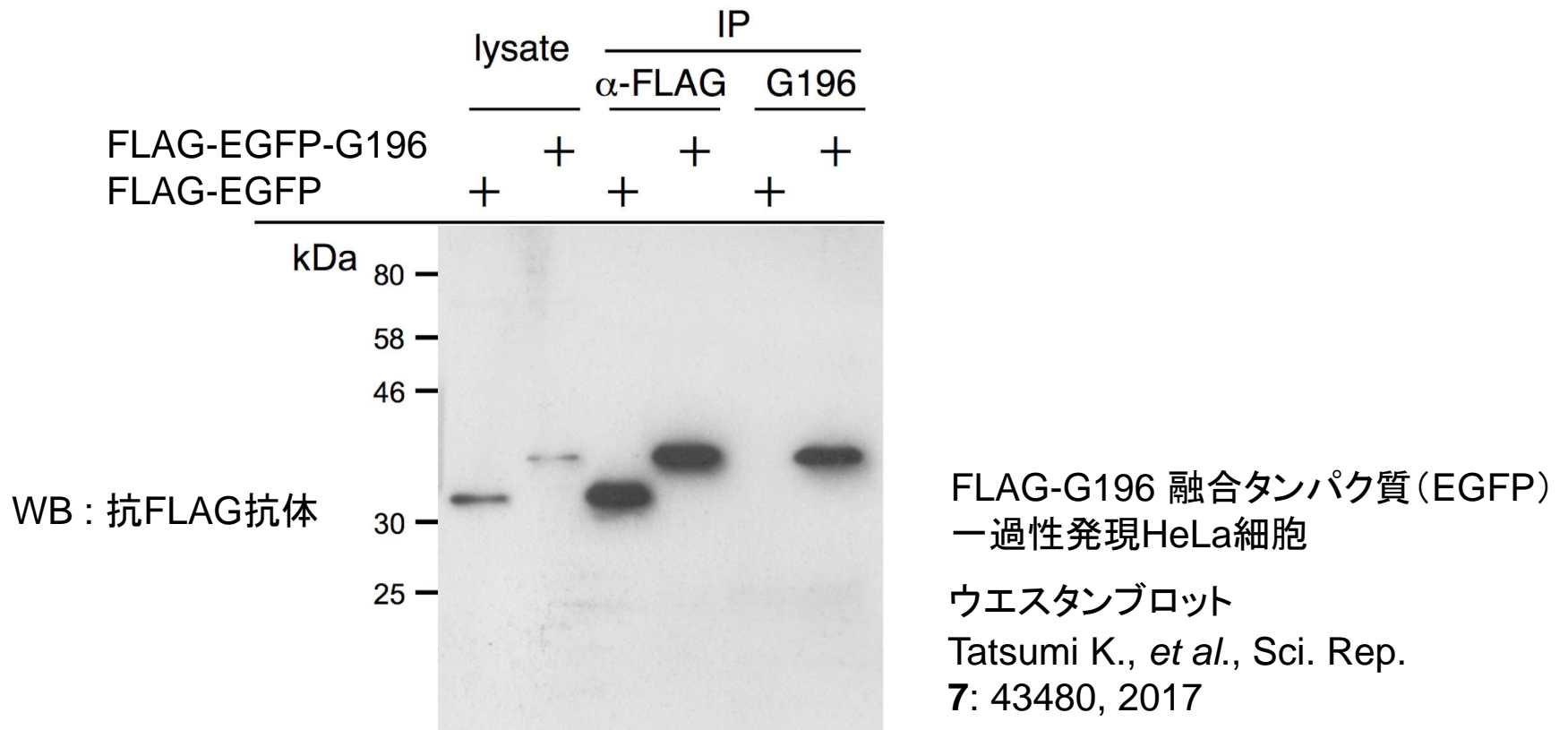
Tatsumi K., *et al.*, Sci. Rep.

7: 43480, 2017

新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

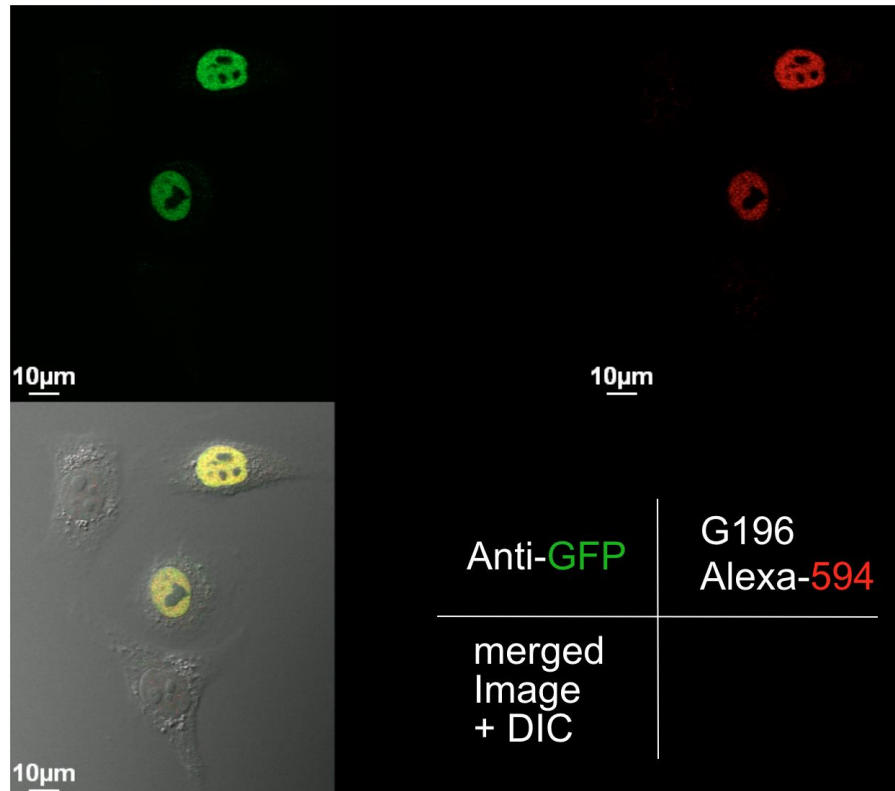
- ・効率のよい免疫沈降が可能である。



新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

- ・免疫細胞染色が可能である。



G196-EGFP 融合核タンパク質 (NAC1)
一過性発現HeLa細胞

免疫細胞染色

Tatsumi K., *et al.*, *Sci. Rep.*

7: 43480, 2017

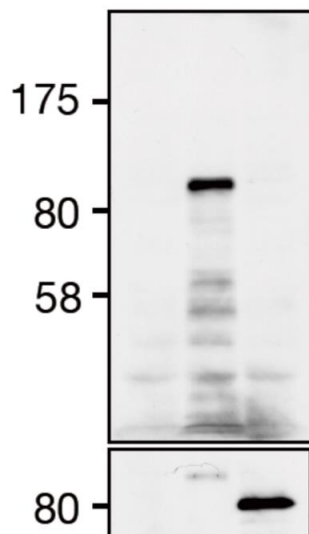
新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

- ・ヒト細胞ばかりではなく、酵母でも使用できる。

ウエスタンブロット

Atf1-G196-GFP	-	+	-
GFP-lws1	-	-	+

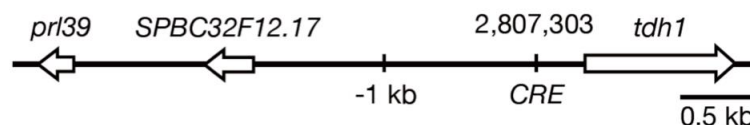


WB:
G196

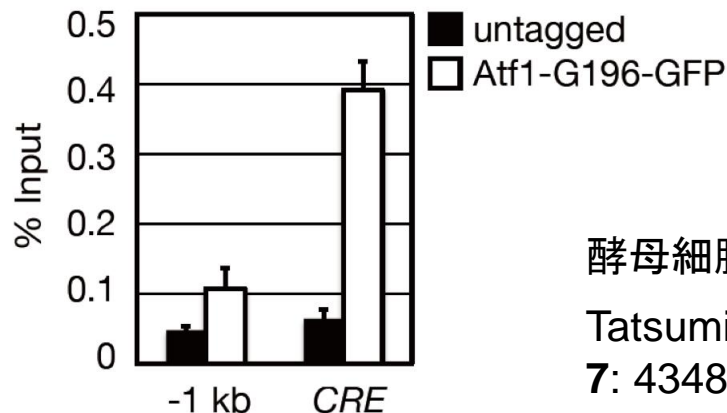
α -GFP

クロマチン免疫沈降

Chromosome II



ChIP: G196



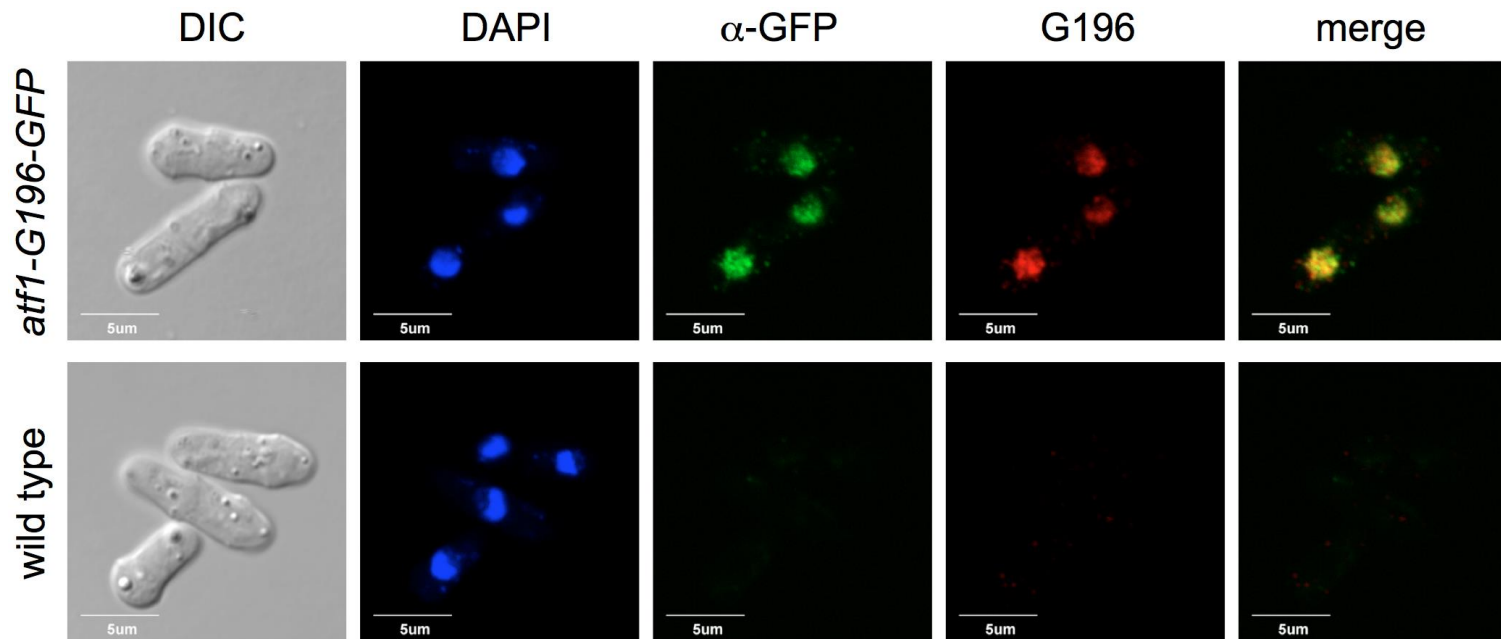
酵母細胞

Tatsumi K., *et al.*, Sci. Rep.
7: 43480, 2017

新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

- ・ヒト細胞ばかりではなく、酵母でも使用できる。



免疫細胞染色

酵母細胞

Tatsumi K., *et al.*, Sci. Rep.
7: 43480, 2017

新技術の特徴・従来技術との比較

G196は、

- ・タグペプチドとの結合親和性が非常に高い。

GSDLVPRGS

$$K_d = 1.25 \text{ nM } (\pm 0.77)$$

測定：等温滴定カロリーメトリー

参考値：・ α -FLAG M2

$$K_d = 3\text{-}28 \text{ nM}$$

・ α -c-Myc 9E10

$$K_d = 2.2\text{-}560 \text{ nM}$$

想定される用途

G196は、

- 分子生物学的手技において幅広く使用できるタグシステムです。
- 抗体が認識するタグ配列が5アミノ酸と非常に短いため、標的遺伝子の前後にオリゴDNAを用いて簡単にタグ配列を挿入することができます。
- 目的タンパク質の細胞内局在に関わらず、免疫細胞染色でも威力を発揮します。

タグシステムとして すでに他の研究者に使用されています

- ・酵母におけるタンパク質複合体精製.
Genes Cells, 18: 823–837, 2013
- ・酵母におけるタンパク質複合体精製と
タンパク質間相互作用検出.
J. Biochem., 155: 159–171, 2014
- ・ヒト細胞における免疫細胞染色.
Cell Rep., 7: 1156–1167, 2014

企業への期待

- ・全世界の研究者のために、G196タグシシステムの世界規模でのマーケティングが可能な企業への導出を希望します。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：新規モノクローナル抗体、
及びそのタグ抗体としての利用
- 登録番号：特許5928734号
- 出願人：島根大学
- 発明者：浦野 健、辰巳香澄、関根浄治

問い合わせ先

島根大学産学連携コーディネーター

中村 守彦

TEL 0853-20-2912

FAX 0853-20-2913

e-mail nkmr0515@med.shimane-u.ac.jp

松下 幸之助

TEL 0852-60-2292

FAX 0852-60-2395

e-mail matsushita@riko.shimane-u.ac.jp