多様な基板材料にタンパク質を固定する ペプチドタグ融合タンパク質の開発手法

Point 1. ペプチドタグにより、タンパク質チップのパフォーマンスを向上

Point 2. ポリカーボネート、ポリメタクリル酸メチルなどの基板に有効なペプチドタグ群を開発

Point 3. ペプチドタグ融合タンパク質の効率的なスクリーニング手法を開発

タンパク質チップのパフォーマンス向上　本技術の内容

医療診断や生化学の分野において、抗体や酵素などの特定の機能性タンパク質を基板上に高密度・高活性・均一な配向で固定化することで、固定化酵素や医療診断材料の機能を向上することが可能となります。(図1)。我々が開発した材料親和性ペプチド（ペプチドタグ）はタンパク質に遺伝子工学的な手法で導入でき、その結果、ペプチドタグを介して本来固定化できない材料表面に高密度に固定化できます。さらに、ペプチドタグを介して固定化することで残存活性の向上、分子配向の均一化が可能となります。(図2)。

パフォーマンス　＝　活性×密度×配向性×親和性 / 生産コスト

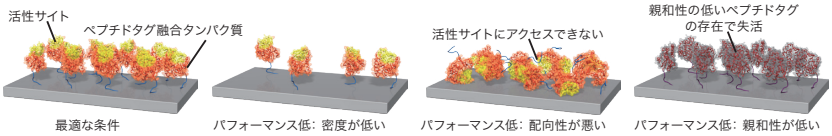

図2　タンパク質チップのパフォーマンスの考え方

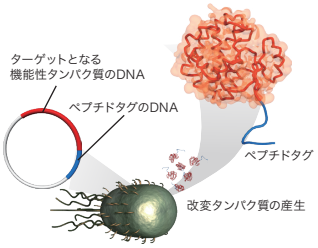

図1　ペプチドタグの導入方法

従来は、いかに機能性タンパク質が高い活性を示すかに力点が置かれていました(活性)が、その性能を最大化するためには、タンパク質を固定化するための諸要素も重要となります。具体的には、いかに高密度に配置し(密度)、またタンパク質の活性サイトが基板に対して垂直に保持され(配向性)、そしてペプチドタグの導入でタンパク質そのものの活性を下げない(親和性)ということが大きな要因となります。

また、産業的な観点からは、生産コストも重要で、タンパク質の種類、基板の種類などによらず、安定的にペプチドタグ融合タンパク質を開発できる技術を確立することも重要となります。本特許技術では、汎用的に使われるポリスチレン(PS)基板の他にも、ポリカーボネイト(PC)、ポリメタクリル酸メチル(PMMA)などの基板に対して効率的に固定化できるペプチドタグの開発に成功しています。

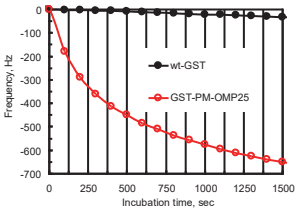

図3　ペプチドタグを用いない機能性タンパク質(wt-GST)と、ペプチドタグ融合機能性タンパク質(GST-PM-OMP25)との高密度配向固定の比較
吸着量が増えるほど振動子の周波数が減少するため、ペプチドタグ融合タンパク質は時間に応じて吸着量が増加していることが分かる。

ペプチドタグを効率的に単離　従来技術との比較

ペプチドタグのスクリーニングには、従来はファージディプレイ法が用いられてきました。この手法は一度に探索できるライブラリーサイズが膨大ですが、材料親和性ペプチドのスクリーニングには適しておりません。本特許技術では、タンパク質中からペプチドタグを選別したうえで、ベクターに導入しタグ付きタンパク質の機能性を評価します。(図4)。

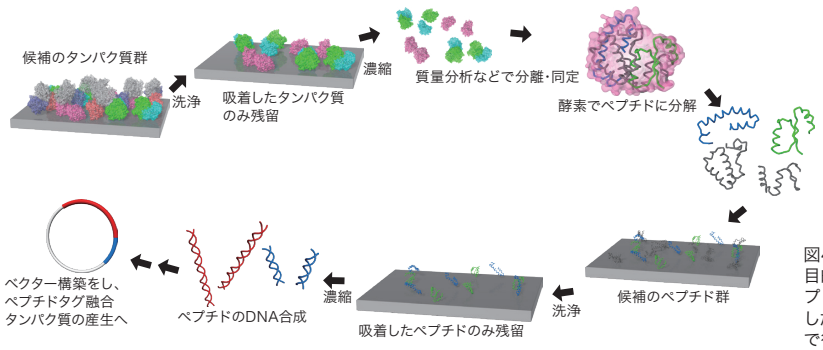

図4　本特許技術によるペプチド融合タンパク質のスクリーニング
目的機能のペプチドを選別せずに一度にベクター導入するファージディスプレイ法と比べ、本手法では、あらかじめ目的機能のペプチドを単離・評価したうえで絞込み、それをベクター構築しており、選別のプロセスを前倒しで行っている。

多様な基板材料でタンパク質を固定するというニーズ　産業応用のイメージ

本特許技術では、いくつかのペプチドタグ融合タンパク質の例を挙げていますが、ペプチドタグ融合タンパク質の開発方法を確立しているため、とくにさまざまな基板材料に対して提供することが可能です。特定の基板材料に対してタンパク質を固定するニーズがあれば、ライセンシング、もしくは共同研究等の形で新しいペプチドタグ融合タンパク質を開発していくことも可能です。

問い合わせ先

京都工芸繊維大学 産学公連携推進センター 知的財産戦略室（研究推進課知的財産係）
tel: 075-724-7039 / fax: 075-724-7030 / e-mail: chizai@kit.ac.jp

知的財産情報

特許出願あり

2017.8