

プロテインタグ、タグ化タンパク質およびタンパク質精製方法 タンパク質の簡便な回収、精製を可能にする不溶化タグ

国際公開番号
WO2013/150680
(国際公開日:2013.10.10)

研究ユニット:

創薬分子プロファイリング研究センター

適用分野:

- 標準タンパク質
- 簡便なタンパク質精製
- プロテインアレイ
- 抗原タンパク質

目的と効果

細胞や生体の全タンパク質のカタログ化を目指すプロテオミクス研究では画一的なタンパク質の分離精製技術は極めて重要です。しかし、タンパク質はさまざまな性質（分子量、等電点、溶解度など）を持ち、画一的な分画・精製は極めて困難でした。この発明の不溶化タグは合成したあらゆるタンパク質を画一的に簡易な遠心分離法のみで分離・精製することを可能にします（図1）。さらに不溶化タグは、質量分析器による解析の際に行われるトリプシン切断によって小さく断片化し、タグが目的タンパク質の測定に影響を及ぼさないように設計されています。この発明によって標準タンパク質を容易に調製可能になりました。

技術の概要

組換えタンパク質に不溶化タグを融合することにより、クルードな組換えタンパク質合成溶液から画一的に目的タンパク質を簡易精製することを可能にする不溶化タグを開発しました。不溶化タグはお互いに結合し、凝集して不溶化する性質を持ち、不溶化タグと融合した目的タ

ンパク質を遠心分離法によって不溶化画分に回収可能です。不溶化タグは目的タンパク質を変性・凝集させることはないため、回収した目的タンパク質は活性を失いません。この凝集体は低濃度の界面活性剤で再可溶化することができ、プロテインアレイなどに利用可能です。また、不溶化タグは質量分析器による定量解析の際の標準タンパク質として利用することができます。

発明者からのメッセージ

約2万種類のヒトタンパク質を網羅的に合成してきた経験から、この発明の不溶化タグのアミノ酸配列の発見に至りました。通常、タンパク質の単離精製には可溶画分からタンパク質を対象とするか、大腸菌のインクルージョンボディとして不溶化したタンパク質を回収するかです。いずれも網羅的なタンパク質の回収は困難です。図2に示すようにこの発明はすべてのタンパク質を不溶化タグと融合させ、画一的に不溶化画分にタンパク質を収率よく回収し、精製することができます。

Patent Information のページでは、産総研所有の特許で技術移転可能な案件をもとに紹介しています。産総研の保有する特許等のなかにご興味のある技術がありましたら、知的財産部技術移転室までご連絡なくご相談下さい。

知的財産部技術移転室

〒305-8568
つくば市梅園 1-1-1
つくば中央第2
TEL : 029-862-6158
FAX : 029-862-6159
E-mail : aist-tlo-ml@aist.go.jp

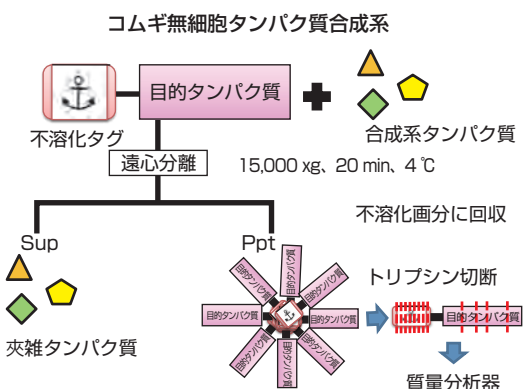


図1 不溶化タグの原理

コムギ無細胞タンパク質合成系で合成した不溶化タグ融合目的タンパク質を、遠心分離法によって簡便に単離精製することができる。あらゆる目的タンパク質を不溶化することができる。

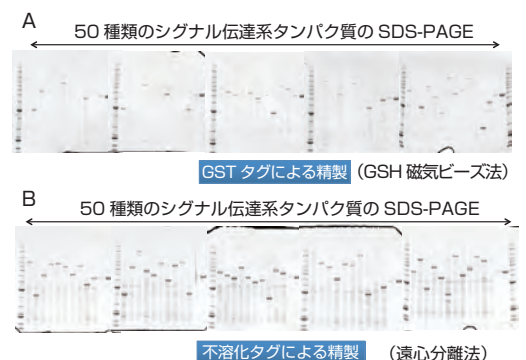


図2 不溶化タグとGSTタグのタンパク質精製の比較

約50種類のシグナル伝達系のタンパク質をGSTタグ融合(A)および不溶化タグ融合(B)で合成し、単離・精製を行い、SDS-PAGEでタンパク質の回収を確認した。Aはタンパク質の回収量に大きな差があるが、Bは均一にすべてのタンパク質が回収されている。