

微量蛋白質の1段階精製を可能にする TARGET タグシステム

Development of a novel affinity tag system for the next generation structural biology

高木 淳一

組換え蛋白質の発現・精製には“タギング”が不可欠であるが、既存のアフィニティータグシステムはさまざまな精製アプリケーションにおいて必ずしも豊富な選択肢を与えてはくれない。筆者らの開発した TARGET タグとその抗体を用いた精製システムは、元々の親和性の低いことを逆手にとった配列の工夫と、安価でマイルドな有機溶媒による溶出という特徴をもち、すでに構造解析プロジェクトでの有効性と汎用性が証明され始めた。抗体によるタグペプチド認識のモードを原子分解能で明らかにしたことで、さらなる改良・改変も可能になりつつある。

Key words ● ペプチドタグ ● アフィニティー精製 ● モノクローナル抗体 ● 親和性 ● 組換え蛋白質発現

はじめに

一昔前は蛋白質の精製は生体試料から多段階のクロマトグラフィーによって苦勞をして行なうものであった。組換え発現技術の普及に伴い、いまでは遺伝子さえ手に入ればどんな蛋白質でも自由に生産し、精製して実験に供することができる。それもこれも“タギング技術”^{*1}のおかげであると言っても過言ではない。組換え蛋白質に付加するタグペプチド（もしくは蛋白質）を介してアフィニティー精製が可能になったからである。しかしながら、比較的大量の、しかも精製度の高い蛋白質試料を要求する構造解析研究において、とくに難発現性の蛋白質を動物細胞などの高度な発現系でつくらなければならないケースにおいては、既存のタギング技術は十分なチョイスを与えてはくれない。

本稿では、筆者らがターゲットタンパク研究プログラムをとおして開発した新しいタギング技術について紹介し、“構造生物学のための蛋白質の生産”における技術開発の必要性・有用性をアピールしたい。

I 組換え蛋白質の精製に用いられる アフィニティータグの条件

1. 既存のシステムのパフォーマンス

世にアフィニティータグはあまた存在するが、そのなかでも“精製タグ”は特別の条件を満たすことが要求される。免疫沈降や蛍光抗体法に用いるタグは特異性と親和性が高ければそれでよいので、すでにいろいろなタグ（Myc, HA, His, V5, Flag など）とその抗体が数え切れないほど市販されている¹⁾。ところが精製タグとして用いる場合には、高特異性と高親和性に加えて、「穏和な条件でバインダーから解離可能であること」ができればならない。これは“高親和性”と矛盾する条件であるので、なかなかよいシステムがない。

表1に市販の代表的な蛋白質精製タグシステムの比較を示す²⁾。これらの多くが蛋白質と低分子化合物（ペプチドを含む）の特異的な相互作用を利用しており、レジンからの溶出には化合物の添加による競合的解離を用いるものが多い（ミニコラム参照）。ペプチドタグとその抗体を使ったシステム（Flag と HPC）は概して非常に高価であるのがわかるが、これに加えて合成ペプチドを溶出に用いる場合にはさらにランニングコストも高くなる（後述）。表1のタグシステムのうち、MBP や GST といったポピュラーで安価なタグは動物細胞での発現に適していないので、コスト的に現実的な選択肢は His タグということになる。

Junichi Takagi

大阪大学蛋白質研究所 プロテオミクス総合研究センター

E-mail: takagi@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsf/synthesis/>