

PRESAT-vector 技術を利用した機能性タンパク質ドメインの解析

横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 廣明 秀一

多くの生物種のゲノムプロジェクトが終了し、生命の設計図ともいべき細胞成分を構成するタンパク質の一次配列のカタログ化が進みつつある。そのためタンパク質の機能の研究は、今後の生命科学研究の主要分野のひとつとなることは間違いない。その際、たとえばプロテインチップのような新規な計測装置を開発するためにも、タンパク質の少量多品種生産の技術はますます重要になってくると思われる。我々は、PCR で増幅した cDNA 断片を方向性をもって発現ベクターに組み込むことの可能な技術【PRESAT-vector 技術】を開発した(1)(2)。この方法は、特殊な試薬などを一切用いずに実験室内で「方向性(unidirectional) TA-cloning」を可能にするものであり、融合タンパク質発現系を短時間で構築する際に特に便利である。原理的には、大腸菌や哺乳動物細胞で利用可能なタンパク質発現のベクターであれば、ほとんどのものに応用可能である。この技術を利用することで、新規の機能性タンパク質のドメイン境界の検証や、タンパク質-低分子基質相互作用、タンパク質-タンパク質相互作用のハイスループットな検証、および相互作用部位の決定などに応用することが可能である。現在、あらたな試みとして、大腸菌内ツーハイブリッドシステムである BacterioMatchTMベクターに PRESAT-vector 技術を組合わせた、タンパク質-タンパク質相互作用を高速で検出するシステムを構築中である。また、PRESAT-vector の製法についての改良も行った。

(1) PCT/JP2004/012523 『新規ベクターとその利用』

(2) Goda, N., Tenno, T., Takasu, H., Hiroaki, H*, and Shirakawa, M. *Protein Sci.* 13 652-658. (2004).