

〈配列特異的プロテアーゼの活性評価〉

目的のタンパク質を融合タンパク質として生産させる方法は、検出のしやすさ、生産性、可溶性向上が期待されるためです。しかしながら、その後の試験目的によっては、融合タンパク質のタグ領域が不要となり、配列特異的プロテアーゼによるタグの切断と除去が求められる場合があります。

本試験では、大腸菌による2種類の配列特異的プロテアーゼ（HRV-3C protease, SUMO protease）の生産を行い、その活性の評価を行いました。

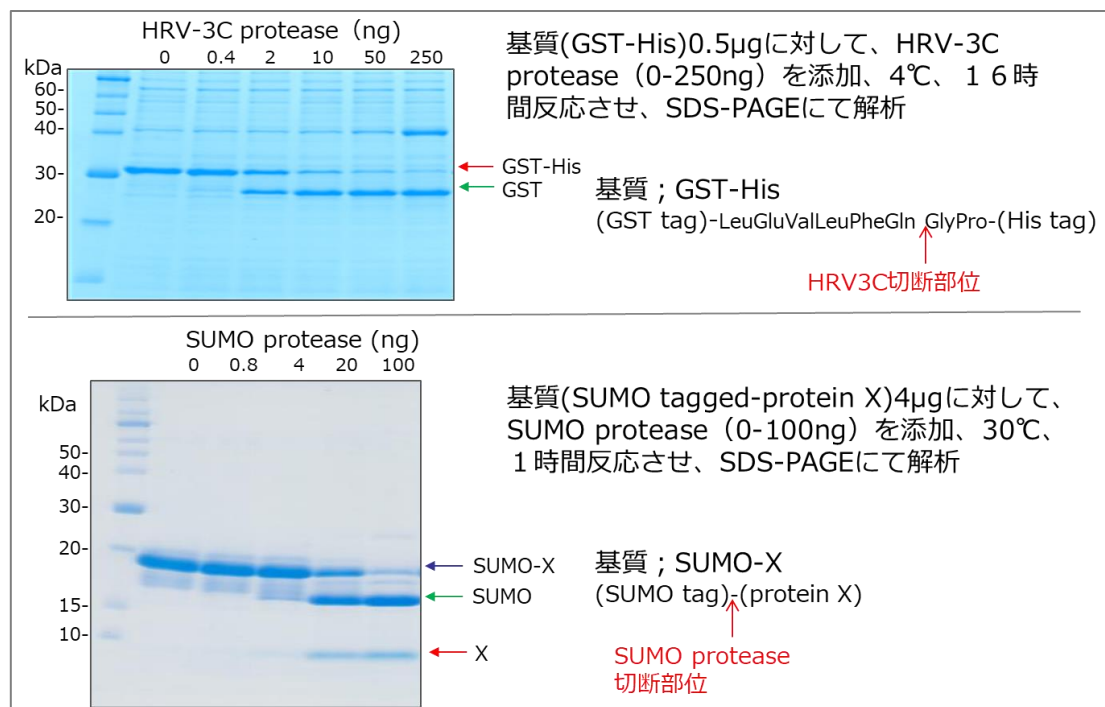
【各プロテアーゼの特徴】

HRV-3C (human rhinovirus 3C) protease は、LeuGluValLeuPheGlnGlyPro 等の配列を認識するセリンプロテアーゼの一種で、前述の配列の場合 Gln/Gly 間の配列を切断します。GST と His タグを付与したコンストラクトにて生産を行いました。

SUMO protease はユビキチン様タンパク質 (Ubl) の低分子ユビキチン様修飾因子 (SUMO) として知られる翻訳後タンパク質修飾を特異的に切断するプロテアーゼです。出芽酵母由来 Ubl 特異的プロテアーゼ 1 (Ulp1) に His タグを付与したコンストラクトとして生産いたしました。

【試験】

別途用意した基質タンパク質に対して、種々の量のプロテアーゼを添加、切断反応を行った後、SDS-PAGE によるバンドシフトにて、配列特異的プロテアーゼによる切断の効率を確認しました。いずれもプロテアーゼ添加量依存的に基質タンパク質の切断が生じていることが確認できます。本試験で生産したプロテアーゼには GST-His や His が付与しており、切断後のタグや未切断の標的タンパク質の除去と同時にプロテアーゼ自体も除去できるので、効率的なタグの切断、除去が可能です。



タンパク質受託発現サービス情報は[こちら](#)