

Rep タンパク質を利用した抗体結合 Nanobody-DNA ハイブリット分子の構築

(東工大生命理工) ○本間 彩花・眞下 泰正・三重 正和・小畠 英理

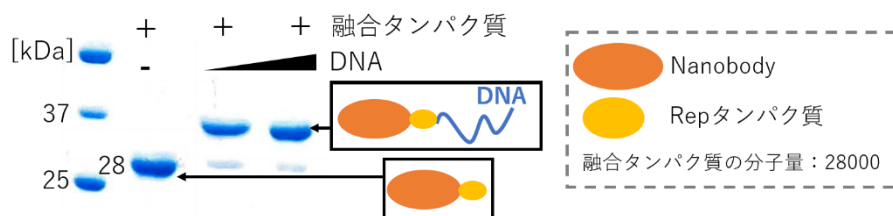
Construction of IgG binding Nanobody-DNA conjugates using Rep protein

(Sch. Life Sci. Tech., Tokyo Tech.) ○Ayaka Homma, Yasumasa Mashimo, Masayasu Mie, Eiry Kobatake

Hybrid molecules between DNA and protein have attracted considerable attention as new functional molecules. However, the conventional methods for construction of hybrid molecules require DNA modification and cumbersome processes. Moreover, it is difficult to precisely control the binding position and the number of molecules using these methods. In our laboratory, we have developed a method for construction of protein-DNA hybrid molecule using Rep protein which has ability to bind ssDNA covalently. In this study, we developed a new fusion protein, IgG binding Nanobody with Rep derived from Porcine Circovirus type 2, for development of immunoassay systems. The fusion protein of Rep and Nanobody was expressed in *E.coli*. After purification, DNA and IgG binding abilities of fusion protein were evaluated.

Keywords : *protein-DNA hybrid molecule, Replication initiator protein (Rep), Nanobody, Immunosensing*

配列設計・増幅の容易な DNA と、分子認識や触媒活性などの高度な機能を発現するタンパク質をコンジュゲートさせたハイブリッド分子は、双方の機能を有した機能性分子として注目されている。しかしながら、従来の DNA-タンパク質ハイブリッド分子の作製方法は、末端を化学修飾した DNA をタンパク質のアミノ基などに結合させるため煩雑な操作を必要とする上に、その結合位置や分子数の制御が困難である。当研究室では、DNA と共有結合を形成する Rep タンパク質を利用し、簡便なハイブリッド分子構築方法を開発した。本研究では、Porcine Circovirus type2 由来 Rep と IgG 結合能を有する Nanobody の融合タンパク質を用いて DNA-protein ハイブリット分子を構築し、汎用性の高い高感度イムノアッセイシステムの開発を目指す。ここでは遺伝子工学的手法により作製した Rep と Nanobody の融合タンパク質を、大腸菌発現系を用いて取得した後、融合タンパク質の DNA 結合能および抗体結合能を評価した。融合タンパク質の DNA 結合活性をゲルシフトアッセイにより評価した結果、バンドのシフトが見られたことから、DNA 結合能を確認することができた。



ゲルシフトアッセイによる融合タンパク質の DNA 結合能評価