

MBP タグ融合ストレプトアビジンを利用したタンパク質精製手法の開発： 再構成ヘムタンパク質のライブラリ構築を目指した精製戦略

(阪大院工) ○岩木 元直・加藤 俊介・林 高史

Development of a Protein Purification System using MBP-tagged Streptavidin and its Application for the Construction of Reconstituted Heme Protein Library

(Graduate School of Engineering, Osaka University) ○Motonao Iwaki, Shunsuke Kato and Takashi Hayashi

Simple and cost-effective protein purification systems provide a powerful platform to screen recombinant proteins in a chemically defined cell-free medium. Our group previously developed an affinity chromatography matrix, named starch-agarose (SA) resin for the purification of recombinant proteins.¹ Since SA resin shows a specific binding ability to MBP-tag, recombinant proteins with MBP-tag sequence were able to be purified with high efficiency.

In this study, to further extend the utility of the SA resin, we developed a new affinity purification system for recombinant proteins with strep-tag II sequence. We constructed a co-expression plasmid pMaS which carries the gene of MBP-fused streptavidin (*mbpSAM1*). This construct was designed to work as a mediator between SA resin and strep-tag II (Figure 1). Since the co-expressed *mbpSAM1* forms a supramolecular assembly with the strep-tag II, the target proteins were able to be purified by the SA resin-based affinity chromatography. Furthermore, we have applied this purification system for the construction of purified heme protein library reconstituted with an artificial metal cofactor as a demonstration.

Keywords: Directed evolution, Affinity chromatography, Protein purification, Heme protein

タンパク質工学の分野において、簡便かつ費用対効果の高いタンパク質精製手法は、有用タンパク質の効率的な探索を実現する有効な手段となる。先行研究において我々は、スターチ・アガロース (SA) レジンという独自のクロマトグラフィー担体を開発したり。SA レジンは、MBP-tag に対して特異的な結合能力を発揮し、MBP-tag 融合タンパク質の精製用担体として機能する。本研究では、この SA レジンの新たな研究展開として、strep-tag II 融合タンパク質を対象とする精製手法を確立したので報告する。まず我々は、MBP 融合ストレプトアビジン *mbpSAM1* の遺伝子をコードする共発現用プラスミド pMaS を作製した。*mbpSAM1* は、SA レジンと strep-tag II 配列の両者への特異的な結合能力を有し、大腸菌発現系において *mbpSAM1* を共発現させることで、strep-tag II 融合タンパク質を SA レジンにより高効率で精製することが可能となった (Figure 1)。更に我々は、この新規精製手法を、人工金属補因子を有する再構成ヘムタンパク質のライブラリスクリーニングへと応用したので発表する。

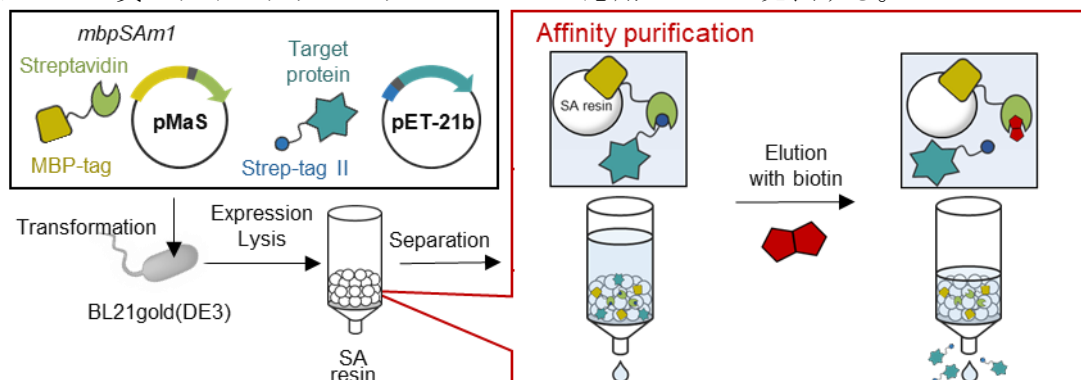


Figure 1. An affinity purification system using co-expression plasmid pMaS.

1) S. Kato, A. Onoda, N. Taniguchi, U. Schwaneberg, T. Hayashi, *ChemBioChem* **2021**, 22, 679.