

論文審査の結果の要旨

氏名 菅井（二ツ森） 睦美

本論文は、バキュロウイルスーカイコ発現系のタンパク質発現量・発現タンパク質の品質及び精製工程の効率化における問題点を解決し、更に効率的なタンパク質医薬品生産を目指すための基盤技術を整備することを目指した研究である。

本論文の大略は次のとおりである。

第一章では、バキュロウイルスーカイコ発現系の特長と課題をまとめ、本研究での目的と意義について述べている。

第二章では、まず、微酸性条件下でアルギニンがタンパク質間相互作用を非特異的に調節できる性質を FLAG タグ精製に応用し、ペプチド混入やタンパク質変性を引き起こさない高効率精製法を目指し、カイコで発現させたシグナルタンパク質 Caf/FLAG、kinase タンパク質 JNK3/FLAG 及び、大腸菌で発現させた膜タンパク質 MsbA を用い、微酸性アルギニンによる溶出試験結果と溶出タンパク質の性状・活性について詳細に述べている。微酸性アルギニンを用いることで、カイコで発現させた Caf/FLAG、JNK3/FLAG とともに FLAG ペプチド競合法にくらべ、効率よく抗 FLAG 抗体カラムから目的タンパク質を回収できることを示し、更に精製した Caf/FLAG の性状をゲルろ過クロマトグラフィー、示唆走査型熱量測定及び SPR 測定より調べた結果から微酸性アルギニンで溶出したものはほぼ native に近い構造・活性を保っていることが明らかになった。又、大腸菌で発現させた膜タンパク質 MsbA も微酸性アルギニンを用いることで活性のあるタンパク質を非常に効率よく精製できることが示された。このことから、微酸性アルギニンが FLAG タグ融合タンパク質溶出において、非常に有用であることが示された。

第三章では、バキュロウイルス発現系において、シグナルペプチドを改変することによって、分泌タンパク質の発現量増加させることを図った。いくつかの改変シグナルペプチドを融合させた組換えタンパク質 (IL-4、IL-13 あるいは IL-11 受容体細胞外領域)

のそれぞれの mRNA 量は一定だったが、総発現量及び分泌量の増減が観察された。このことから、本研究で改変したシグナルペプチドは翻訳レベルでの発現量に影響していることが示唆された。これまで、ほとんどアプローチされてこなかったバキュロウイルス発現系における分泌タンパク質の分泌量向上を目指したシグナルペプチドの改変を行ったことにより、医薬品として期待される様々なタンパク質の分泌発現量の改善に寄与できる可能性が示唆された。

第四章では、治療用タンパク質として注目されている Fc 融合タンパク質をモデルタンパク質としてシャペロンとの共発現により組換えタンパク質の品質を発現レベルで向上させられる可能性が示唆された。

以上の結果について、第五章で総括している。

本研究による成果は、バキュロウイルスーカイコ発現系における高効率なタンパク質生産及び精製のための基盤技術となり、医薬タンパク質や工業用酵素生産開発の発展に大きく貢献することが期待される。

しがたって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。