

Study on the efficient purification of recombinant proteins from the silkworm expression system

メタデータ	言語: en 出版者: Shizuoka University 公開日: 2020-06-11 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Minkner, Robert メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00027509

専攻 バイオサイエンス 学籍番号 55744015 学生氏名 Robert Minkner論文題目 Study on the efficient purification of recombinant proteins from the silkworm expression system (カイコ発現系からの組換えタンパク質の効率的な精製に関する研究)

抗体医薬の需要が増え続け、組換えタンパク質の効率的生産が求められている。大腸菌や酵母発現系は、不完全な翻訳後修飾や封入体形成の問題があり真核生物由来のタンパク質発現には向いていない。一方、昆虫細胞発現系は、翻訳後修飾が可能で、生産性も高く、大量発現系として適している。カイコの場合、組換えタンパク質の発現量が多い反面、カイコ由来のタンパク質も多く含むため精製は容易ではない。しかし、カイコ発現系の体系的なタンパク質精製に関する研究報告がほとんどなく、これがカイコの利用のための大きな課題となっている。本論文は、カイコの幼虫からのタンパク質精製を目的として、カイコ体液から組換えタンパク質の効率的精製を行ったものである。

第1～2章では、カイコ発現系とタンパク質の精製法について概説した。

第3章では、モデル蛍光タンパク質 GFP_{uv}-β1,3-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ2を用いて精製の前処理方法について検討した。

第4章では、第2章で得られた成果を、モデルタンパク質である mCherry の精製に応用して、対照となるアフィニティ精製と同等の純度でしかも高い回収率を得た。

第5章では、ヒトパピローマウイルス様粒子 (HPV) を発現した体液をイオン交換樹脂と CHT カラム及びヘパリンカラム操作で、アフィニティ精製と同等の精製結果を得た。

第6～7章では、エンベロープを持たないウイルス様粒子 (VLP) の精製とエンベロープを持つ VLP の精製を比較・検討した。

第8章では次世代精製法の先駆けとして磁気ナノ粒子を用いたタンパク質の精製を試みた。

以上のように、本論文では、効率的な組換えタンパク質の精製を目指し、最適な前処理条件を決定し、3段階のクロマト操作で DNA とタンパク質をそれぞれ 99.3% 以上除去した結果を示すとともに、カイコで発現したタンパク質の精製に関する有用な知見を与えている。よって、以上のことから、本論文は博士(工学)の学位論文としてふさわしいものと認められる。