

# 快速生產天然蛋白質之小泛素融合蛋白質系統

## 本院覽號

11A-970410

## 公告日期

## 智財權狀態

美國臨時案已申請、台灣(發明)已申請、美國8,034,910已獲證

## 摘要

蛋白質是大多數基因表現的終產物，生物體內進行反應也多以蛋白質為主，所以要了解生命的奧秘，必須要對蛋白質有深入地了解。此外，臨床用藥物也是透過與蛋白質結合，來達到治療的目的，因此蛋白質研究對明瞭藥物的活性與新藥的開發極為重要。臨床用的蛋白質藥或製劑的基本要求之一，就是其氨基酸序列與組成必須與天然蛋白質(native protein)完全相同，否則就得大費周章地提出生理與病理研究數據，證明多出來的氨基酸或序列不全的蛋白質對人體無害，也不會發生免疫排斥等問題。基於以上考量，我們改良了現有以小泛素(SUMO)作為攜帶蛋白(Carrier)的融合蛋白(Fusion Protein)技術，發展出一套快速生產天然蛋白質的新方法。此方法的原理係將N-端攜有六聚 氨酸的小泛素(His6-SUMO)的基因與標的蛋白(target protein)的基因，以基因重組技術結合為一，表達出「六聚 氨酸-小泛素+標的蛋白」前後接合的融合蛋白。融合蛋白因小泛素的加持輔助，表現量與水溶性都可增加。然後再利用Ulp1小泛素水解酶(SUMO protease)將六聚 氨酸-小泛素自融合蛋白準確地切除，從而產生標的蛋白，而後者的氨基酸序列與天然蛋白質完全相同。

## 創作人

王廷方

## 技術優勢

應用非平整端點聚合酶連鎖反應(Sticky-End PCR)的方發，可將標的蛋白基因製出5' SfoI 平整端 (blund end) 與3'XhoI 之非平整端點 (sticky end)，再以此固定方向，置入有六聚 氨酸-小泛素的載體(vector)，然後此載體即能用來生產上述的融合蛋白。此方法適用於所有的標的基因，且不受限於標的基因是否有SfoI或XhoI限制酶切位(Restriction site)。新改良的Ulp1小泛素水解酶的N-端與C-端都有六聚 氨酸，此水解酶對鎳離子樹脂(Ni<sup>2+</sup> resin)有非常高的親和性。先利用鎳離子樹脂純化融合蛋白，然後將與鎳離子樹脂結合的融合蛋白，直接與改良的Ulp1小泛素水解酶混合進行切除反應，反應完成後只有標的蛋白會自鎳離子樹脂釋出，反之新改良的Ulp1小泛素水解酶與六聚 氨酸-小泛素(His6-SUMO)則仍與鎳離子樹脂結合。

## 應用範圍

可快速表達與純化氨基酸序列與天然蛋白質完全相同之重組蛋白質，產品可應用於蛋白質藥、疫苗、檢驗試劑或篩選以該蛋白質為標地之新藥。



中央研究院  
ACADEMIA SINICA