

用以表現N端具有焦麩氨酸之蛋白的載體組

本院覽號

11A-1030630

公告日期

智財權狀態

台灣(發明)I 532837已獲證、美國US 9,856,483 B2已獲證

摘要

一些有藥用或工業用價值的蛋白質或多胜肽其氮端含pyroglutamate (pGlu) 修飾，與其生理活性有關。目前利用大腸桿菌或真核細胞量產含pGlu的蛋白質或多胜肽仍是艱難任務；本新方法讓重組蛋白質在細胞內自動環化而能快速量產含pGlu的蛋白質。

技術優勢

目前已知一些具生理活性的蛋白質及多胜肽，其氮端有一個焦麩氨酸殘基(pyroglutamate residue或pGlu)與他們的生理活性息息相關。該氮端pGlu是由麩氨酸殘基(glutamine residue)或麩氨酸殘基(glutamate residue)經麩氨酸環化酶(glutaminy cyclase)催化後的環化產物。目前為止，利用大腸桿菌或真核細胞來量產這些含pGlu修飾的蛋白質及多胜肽，仍是一項艱難的任務。根據先前的文獻報告，欲生產含pGlu修飾的蛋白質，可將未環化的蛋白質樣品置於10~20 mM的磷酸鈉緩衝液 (pH 7-8) 中，然後在37°C下放置24小時，或在4°C下放置2個星期；然而，在這段放置過程中，往往因為污染的蛋白質水解酶分解了蛋白質樣品或蛋白質樣品本身變質凝集，以致於此種方法易造成蛋白質樣品的損失。有鑑於此，我們設計了一種可以直接在細胞內進行環化反應產生含pGlu修飾蛋白質的嶄新方法；這是一個透過煙草蝕紋病毒蛋白酶 (tobacco etch virus protease) 將重組的蛋白質樣品氮端切除而露出glutamine residue，然後由一個源自細菌的glutaminy cyclase自動將此氮端glutamine環化成pGlu，而產生含pGlu修飾的蛋白質。再者，搭配我們之前研發的粘性末端聚合酶鏈鎖反應之選殖策略(sticky-end PCR cloning strategy)，我們的設計可以透過兩個獨特的限制酶切位(SnaB I和Xho I)使標地蛋白質基因有效地插入我們的表達載體中，接著可溶性且氮端pGlu修飾的標的蛋白質便可在大腸桿菌細胞內量產。這樣的設計將大大提升含氮端pGlu修飾的蛋白質藥物或藥物標靶蛋白質的量產。

應用範圍

這項技術可大幅提升氮端含pGlu修飾的蛋白質藥物、藥物標靶蛋白質或有工業用價值之蛋白質及多胜肽利用大腸桿菌細胞或真核細胞進行量產。

創作人

王惠鈞、黃開發、石燕萍



中央研究院
ACADEMIA SINICA