超タンパク質合成

生物は、遺伝暗号表にある 20 種類の天然型アミノ酸のみを使ってタンパク質を生成する。実際にはそれでは不十分なので、生物は、タンパク質へ翻訳した後でリン酸化などの多様な修飾を施し、必要な機能を発揮させている。そこで、もしタンパク質生成において、多種多様な非天然型アミノ酸を組み込んだタンパク質 (alloprotein¹⁾) を生産することができれば、天然の機能を超えたタンパク質 (“超タンパク質”) を創出することも可能になると期待される。

タンパク質の生成においては、20 種類の天然型アミノ酸のそれぞれに対して専用のアミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) が存在し、アミノ酸と tRNA の両方を識別して結合させる。大半の非天然型アミノ酸は、ARS による分子識別によって排除されてしまうが、なかには、20 種類の ARS のいずれかの分子識別をくぐり抜けて基質となり、タンパク質生成においてポリペプチド鎖に取り込まれるものがある。それらの非天然型アミノ酸が細胞において必須のタンパク質に取り込まれると、強い毒性が現われ、それらを組み込んだタンパク質を生産することは困難であった。

筆者らは、非天然型アミノ酸による細胞毒性を軽減するために、細胞本来のタンパク質の合成を抑制する条件で外来遺伝子からのタンパク質の合成を誘導し、かつ、合成された超タンパク質を分泌させることを企てた。まず、大腸菌アルカリフォスファターゼの遺伝子 (*phoA*) のプロモーターとシグナルペプチド配列の下流に、アミノ酸 53 残基よりなるヒト上皮成長因子 (*hEGF*) の遺伝子を組み込んだプラスミドを用い、21 番目のメチオニンを、ノルロイシン (図) に置換した変換体 ([Nle²¹]*hEGF*) を作成することを試みた。このプラスミドをもつ大腸菌を低リン酸濃度の培地 (ノルロイシンを加えておく) に移すと、大腸菌の増殖が抑制されるとともに、組み込んだ *hEGF* 遺伝子の発現が誘導され、合成された *hEGF* は、*phoA* のシグナル配列によりペリプラズムへと分泌された。H₂O₂ 処理を行うと、天然型 *hEGF* はメチオニン残基において容易に酸化されたのに対して、[Nle²¹]*hEGF* は酸化を受けなかった。単離された [Nle²¹]*hEGF* は天然型 *hEGF* と同等の活性を示した¹⁾。

このように、メチオニン→ノルロイシンという置換によって、そのタンパク質を酸化に対して耐性にすることが可能である。通常、タンパク質にとっては、メチオニン残基の側鎖の大きさと疎水性が重要であるの

図 メチオニン (左) とノルロイシン (右)

で、ノルロイシンへの置換は、タンパク質の活性にほとんど影響を与えないと考えられる。したがって、メチオニン残基の酸化により失活するタンパク質については、従来より試みられている方法 (タンパク質性のロイシンやイソロイシンなどの疎水性分岐アミノ酸への置換) よりも、ノルロイシン置換法が有用である。すなわち、天然型タンパク質と同等の活性をもち、酸化で失活しない“超タンパク質”をつくれるのである。

実際、筆者らの報告¹⁾とほとんど同時か、少し遅れて、いろいろなタンパク質にノルロイシンを組み込んだという報告が相次いでいる^{2)~5)}。また、このノルロイシンがごく少量ではあるが、生体内で生成されることも見いだされた^{2),5)}。

今後、強い蛍光性や化学反応性などをもつ多様な非天然型アミノ酸を組み込んだ“超タンパク質”をつくり出せれば、タンパク質工学の新たな手法となり、バイオチップの開発などにも寄与することが期待される。

文 献

- 1) H. Koide, S. Yokoyama, G. Kawai, J.-M. Ha, T. Oka, S. Kawai, T. Miyake, T. Fuwa, T. Miyazawa: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6237 (1988)
- 2) A.M. Gilles, P. Marliere, T. Rose, R. Sarfati, R. Longin, A. Meier, S. Femandjian, M. Monnot, G.N. Cohen, O. Barzu: *J. Biol. Chem.*, **263**, 8204 (1988)
- 3) L.B. Tsai, H.S. Lu, W.C. Kenney, C.C. Curless, M.L. Klein, P.H. Lai, D.M. Fenton, B.W. Altrock, M.B. Mann: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **156**, 733 (1988)
- 4) H.S. Lu, L.B. Tsai, W.C. Kenney, P.-H. Lai: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **156**, 807 (1988)
- 5) G. Bogosian, B.N. Violand, E.J. Dorward-King, W. E. Workman, P.E. Jung, J.F. Kane: *J. Biol. Chem.*, **264**, 531 (1989)

横山 茂之 Shigeyuki Yokoyama (東京大学理学部生物化学教室・助教授, 理博, 専門=生物物理化学)
宮澤 辰雄 Tatsuo Miyazawa (横浜国立大学工学部物質工学科・教授, 理博, 専門=物理生化学)