

植物培養細胞を利用した有用たんぱく質合成技術の開発

利用者：石川県立大学 森 正之

研究支援者：北陸先端科学技術大学院大学 大木進野, 梅津喜崇

【研究目的】

医薬品、農薬、食品添加物など、産業に応用できる可能性が高いたんぱく質やペプチドは多数知られているが、それらを安価・大量に安定供給する汎用システムは殆ど確立されていない。本利用者は、植物培養細胞（タバコBY2細胞）を使って有用たんぱく質を大量に合成する技術を開発している。本課題では、開発中の新規技術を使って合成したたんぱく質の品質評価を、NMRや質量分析で行っている。

【成果】

植物（シロイヌナズナ）ゲノム情報を利用した網羅的解析によって、胚形成初期段階で特異的に働く生理活性ペプチドESF (embryo surrounding factor) が新規に発見された。このペプチドを開発中の本技術で合成し、その立体構造をNMRと質量分析で解明して作用機序を推定することに成功した。植物体を用いた実験から、このペプチドは種子の大きさを揃える役割をしていることが明らかとなった。

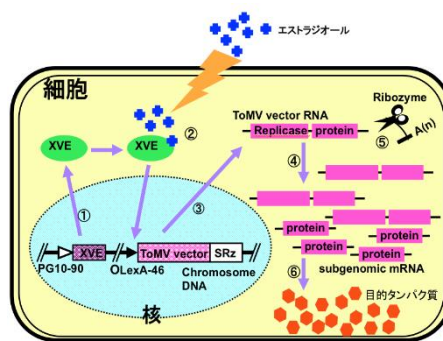


図1 BY2を用いたたんぱく質合成の概略図

①特定の分子（エストラジオール）で活性化される転写因子（XVE）が産生。②エストラジオールでXVEが活性化。③目的タンパク質の遺伝子を含むウイルスの遺伝子（ウイルスベクター）が産生。④ウイルスベクターが増殖。⑤触媒活性を持つRNA（リボザイム）による切断。⑥目的タンパク質の大量発現。

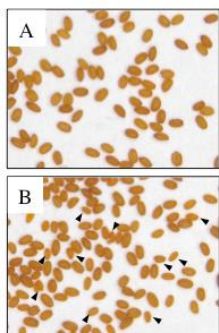


図2 新規ペプチドESFの働き

(A) 正常な植物の種子。(B) ESFが働かない植物の種子。Bでは種子の大きさが不揃いになっている。

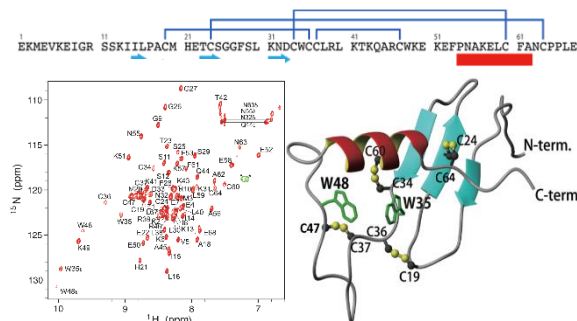


図3 新規ペプチドESFの構造

（上段）ESFのアミノ酸配列。4組のジスルフィド結合の位置は、酵素消化と質量分析によって決定された。（下段左）ESFの ^1H - ^{15}N HSQCスペクトル。（下段右）ESFの立体構造のリボン図表示。ふたつのTrp残基が分子表面に並んで存在していることが明らかになった。

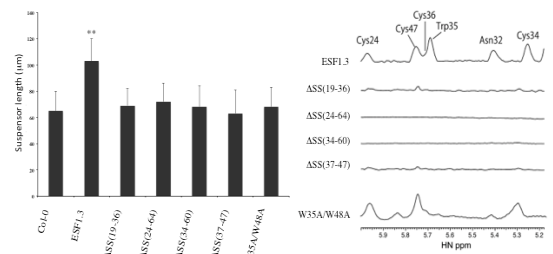


図4 新規ペプチドESFの構造-機能相関

（左）ESFの各種変異体を過剰発現させた植物体で種子の大きさが不揃いになる割合。（右） ^1H -NMRスペクトルの低磁場シフトした $\alpha^1\text{H}$ 領域。4組のジスルフィド結合は1つでも欠けると立体構造が崩れて生理活性が無くなる。2個のTrp残基をAlaに置換すると、立体構造は保持されているが生理活性は失われる。

【支援実施機関からのコメント】

本発表の内容は、英国Warwick大学のJ.F.Gutierrez-Marcos博士のグループとの協同研究の成果です。研究成果はScience誌（(2014)344, 167-172）に公表されました。また、この内容はScience誌のPerspective((2014)344, 158-159)で取り上げられました。さらに、毎日新聞（2014年4月23日24面）をはじめ新聞5紙で紹介されたほか、JSTやNanotechJapanのニュースサイトなど幾つかのWEBページでも紹介されました。今回の学術的な成果を呼び水として、本技術が産業応用へ展開されることを望んでいます。

【参考文献等】

- [1] Science (2014) 344, 158-159, 167-172.
[2] 毎日新聞（2014年4月23日24面）ほか