

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

Development of a method for synthesizing useful proteins by using suspension-cultured plant cells

ユーザー氏名: 森正之 (石川県立大学) M.Mori (Ishikawa Prefectural Univ.)

実施機関担当者: 梅津喜崇、大木進野 (北陸先端科学技術大学院大学) Y.Umetzu & S.Ohki (JAIST)

▶ Key words

plant cells, protein expression, labeling, NMR

概要 / Overview

今日までに、遺伝子組み換え大腸菌や酵母、無細胞系など多くのたんぱく質合成方法が開発されてきた。本課題では、これらの手法では合成できない複雑な構造を有するたんぱく質の合成を可能にする、植物培養細胞(BY-2)を利用した新しいたんぱく質合成技術を開発している。例えば、この技術を使うと、SS(ジスルフィド)結合を持つたんぱく質などの合成もできる。さらに、この方法は大容量での合成も行うことができるので、産業化が見込める。

Until today, various protein expression methods including *E. Coli*, pichia, and cell-free systems have been developed. In this project, we are developing an another alternative system with suspension cultured plant cells, BY-2. It enables to express the proteins, forming complicated structure, that are too difficult to be synthesized by known systems. For example, the new method can prepare mature and bioactive proteins containing SS-(disulfide) bonds. Moreover, the method is adoptable to large-scale protein expression, so that it would be employed for industrial use.

新規のたんぱく質合成技術

The new system for protein expression

高い合成効率

High productivity

- 目的のたんぱく質遺伝子をもつウイルスベクター遺伝子を、植物培養細胞の染色体DNAへ導入する。この結果、目的たんぱく質のsubgenomic RNAが大量に作られ、高効率でたんぱく質合成が行われる。わずか 50 mL の液体培地で細胞を培養しても、数ミリigramの目的たんぱく質を得ることができる。
- Virus vector cDNA with a DNA of the sample protein is constructed. Then this DNA is integrated into chromosomal DNAs in plant cells. It makes a large amount of subgenomic RNA encoding the target protein, thus achieves high productivity. Cells cultured even in 50 mL medium produce several mg of the target protein.

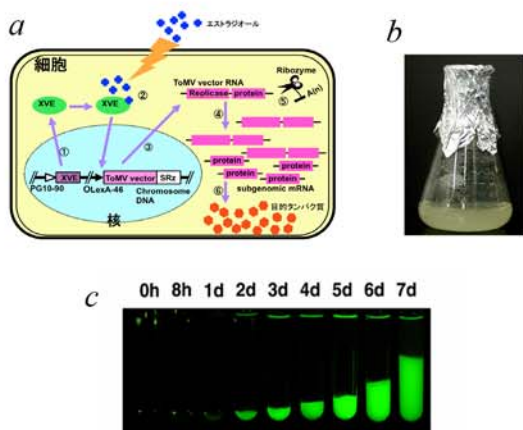


図1 植物培養細胞を利用したたんぱく質合成技術 (a) 概略図、(b) 細胞が入った液体培地、(c) 蛍光たんぱく質GFPを合成した様子。たんぱく質合成を開始した後の時間・日数を表示。
Fig. 1. Protein expression system using plant cells (a) overview, (b) suspension cultured plant cells in the liquid medium, (c) expression of GFP. Days indicated in the photo mean the expression time after induction.

基礎研究への応用事例

Applications in academia

安定同位体標識

Stable-isotope labeling

- NMRで解析可能なたんぱく質を合成する技術を確立。液体培地に ^{13}C や ^{15}N で安定同位体標識された試薬を加えることにより、各種の標識パターンを持つたんぱく質を調製できる。
- We have established the protocols to prepare the proteins for NMR study. Addition of ^{13}C - and/or ^{15}N -labeled chemicals allows us to obtain stable-isotope labeled proteins.

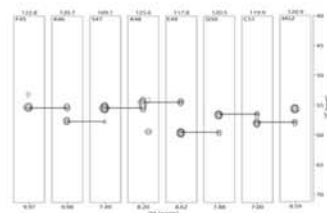


図2 ^{13}C と ^{15}N で安定同位体標識したたんぱく質の3次元NMRスペクトルHNCAのストリップデータ
Fig. 2. Strips of HNCA spectrum recorded for the (^{13}C , ^{15}N)-doubly and uniformly labeled protein

たんぱく質の構造・機能を探る

Analyses of structure and function

- 種子の大きさを揃えるESF(embryo surrounding factor)を大量に調製することに成功。その立体構造をNMRで解明。機能を担うアミノ酸残基を特定。
- ESF, a peptide that regulates the size of seeds was successfully synthesized by this protein expression system. NMR study solved the three-dimensional structure of ESF, and identified the key amino acid residues responsible for the function.

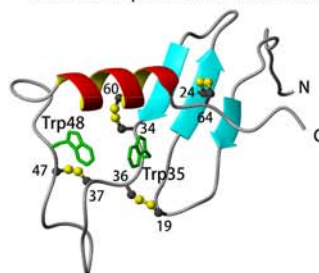


図3 ESFの立体構造
Fig. 3. Structure of ESF

Reference:
Science (2014) 344, 168-172.

▶ Contact

氏名: 森 正之 (石川県立大) / 大木進野 (北陸先端大)