

ユビキチン化タンパク質解析による生体分子マーカー探索の試みと組換えタンパク質生産技術の開発

産業技術総合研究所 ゲノムファクトリー研究部門
北海道大学大学院農学研究科
田村 具博

生体内機能分子であるタンパク質は、翻訳後修飾以外にも分解消失する事で機能(活性)制御を受けている事が知られる。タンパク質はそれぞれが異なる半減期を持つことが知られているが、ある時は積極的(強制的)に分解を受けたり、ある時は分解を免れるといった現象が確認されている。この事は、タンパク質の分解のタイミングは厳密に制御されていることを意味する。

細胞内タンパク質のほとんどは、膜で囲われたプロテアソーム系を含む分解工場と言うべきリソソームにより非選択的に分解されるか、細胞質に存在するユビキチン-プロテアソーム系によりユビキチンが分解シグナルとして付加されて選択的に分解される。ユビキチン-プロテアソーム系は、認識機構と分解機構の2つのシステムが厳密な制御下に機能しており、一旦タンパク質が分解系に取り込まれると、プロテアソームによりオリゴペプチドへと分解され、その分解産物は更に小さいペプチドへと分解された後、最小構成単位であるアミノ酸へと分解される。この分解過程における初期分解並びにオリゴペプチドの分解は、生体機能を維持する上で重要な役割を果たしている事が知られる。事実、分解系の異常が様々な疾患に関連している事からもその機能的意義は明白である。そこで我々は、上述したユビキチン-プロテアソーム系に取り込まれて分解を受けるタンパク質の同定を試みている。様々な生理的条件下に選択的に分解を受けるタンパク質を同定することができれば、新たな生体分子マーカー取得が期待されるからである。

一方、このようにして同定したタンパク質の機能と構造を解析するためには、タンパク質を提供する組換えタンパク質生産技術が必要となる。組換えタンパク質生産システムは複数の系が既に開発されているが、生産困難なタンパク質は少なくない。そこで我々は、既存の系では生産が困難なタンパク質の生産には、既存のシステムとは異なる生産環境を提供することが解決策の1つと考え、放線菌の一種である *Rhodococcus erythropolis* 細胞を宿主とした新規組換えタンパク質生産システムを開発した。本宿主による生産系は、既存のシステムより

低温度域でのタンパク質生産が可能(4度〜35度前後)である。また、本宿主はゲノム GC 含量が高く(63%)、コドン使用頻度等も異なるグラム陽性菌であるため生産環境は大腸菌とは大きく異なっていると推測される。

各種発現ベクターを構築し *R.erythropolis* 細胞でのタンパク質生産能力を調べると、生産量に差はあるものの大腸菌で発現可能なタンパク質に加え、生産困難なタンパク質でも生産・回収されるタンパク質があることが確認され、タンパク質生産性が生産環境により大きく変化することが明らかとなった。本宿主細胞はグラム陽性菌であるが故に細胞破碎が困難でタンパク質の回収率が問題点となっていたが、リゾチーム感受性株を取得することで組換えタンパク質の精製効率を高めることにも成功した。

本シンポジウムでは、生体分子マーカーの探索とその機能解析へ向けた組換えタンパク質生産技術についての我々の試みを紹介したい。

ユビキチン-プロテアソーム依存性タンパク質分解系

