

低温条件下での効率よいタンパク質生産へ道

酵母低温発現系の開発

近年の様々な生物のゲノム解析の進展に伴い、多様なタンパク質が同定され、産業や医薬品への応用を目的としてそれらの構造・機能に関する研究が進められている。これらの研究において、機能を保持したタンパク質を生産できる発現系は必須である。大腸菌発現系は最も広く利用されているが、発現タンパク質が不溶化し、機能を保持したタンパク質生産が困難である例が多く報告されている。この問題を解決するため、低温で発現を行う方法が一般的に行われているが、生産量の低下を伴うことが知られている。一方、酵母は、機能を保持したタンパク質を発現し易い、培養コストが安いなど、タンパク質生産に適した宿主であるが、従来の酵母発現系は発現量が低く、タンパク質生産に利用されている例は少ない。そこで、我々は、低温で効率的にタンパク質を生産することを特徴とする出芽酵母の新規発現系の開発を行った。

これまで、出芽酵母においては、わずかに数種類の遺伝子が低温で発現誘導されることが報告されているのみであったため、マイクロアレイとバイオインフォマティクスを用いて、低温処理した出芽酵母の網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、低温処理後の酵母が多数の遺伝子の発現を順次変化させるこ

とで、低温環境に適応していることが明らかになった。同時に、約250種の低温誘導性遺伝子を新規に同定することができた。これらの結果に基づき、低温で強く発現誘導される遺伝子プロモーターを利用した新規なタンパク質発現系を構築した(図1)。最初に、本発現系を用いて緑色蛍光タンパク質を発現させたところ、その発現量は粗抽出液中の約50%まで達し、常温下における既存の酵母発現系を凌駕する発現量を得ることに成功した(図2)。また、本発現系を用いることにより、大腸菌発現系では不溶化するタンパク質を、可溶性で、機能を保持した状態で発現させることができた。これらの結果から、本発現系は酵母培養液を低温に曝すだけで、機能を保持したタンパク質を効率良く生産可能であることが示された。

現在、ヒト完全長cDNAを含め多様なタンパク質の発現実験を行い、本発現系の有用性の評価を行っている。また、本発現系を商業レベルでのタンパク質生産に用いるための実用化研究も、企業との共同研究により進めている。今後、本発現系が、既存の発現系では生産が困難であった産業用・医薬品などの有用タンパク質生産に広く寄与できることが期待される。

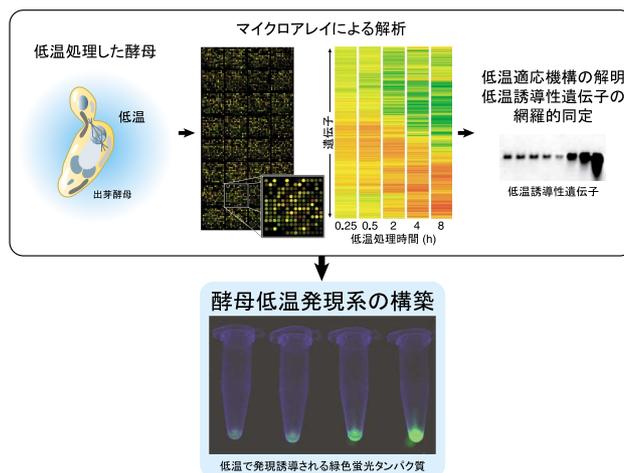


図1 酵母低温発現系の開発

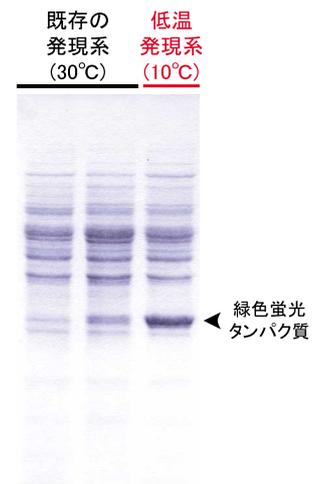


図2 低温発現系を用いた緑色蛍光タンパク質の発現



さはらたけひこ  
佐原健彦  
t-sahara@aist.go.jp  
生物機能工学研究部門

関連情報

- 共同研究者: 合田孝子, 扇谷 悟 (生物機能工学研究部門) .
- T. Sahara, T. Goda, S. Ohgiya: J. Biol. Chem., Vol. 277, 50015-50021 (2002).
- 国際特許出願 PCT/JP03/05956 「酵母由来プロモーターならびにこれを用いたベクターおよび発現系」(佐原健彦, 合田孝子, 扇谷 悟, 川崎公誠) .