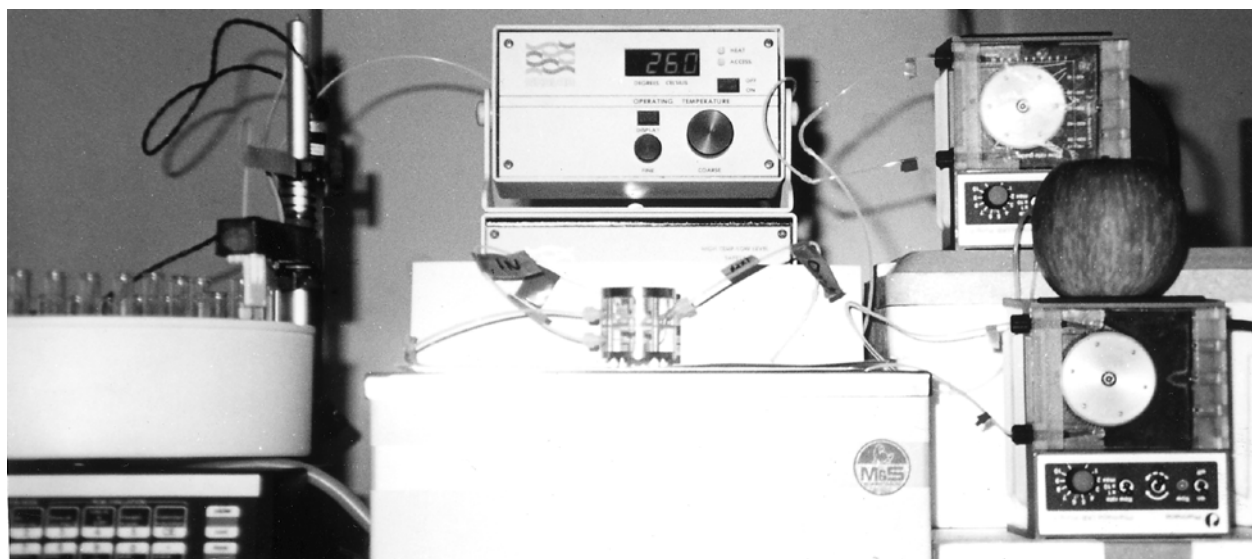


A Robust, Highly Efficient Cell-Free Protein Synthesis System

無細胞蛋白質合成系の安定化と 翻訳反応の効率化

プロジェクトリーダー 遠 藤 弥重太

愛媛大学 工学部 教授



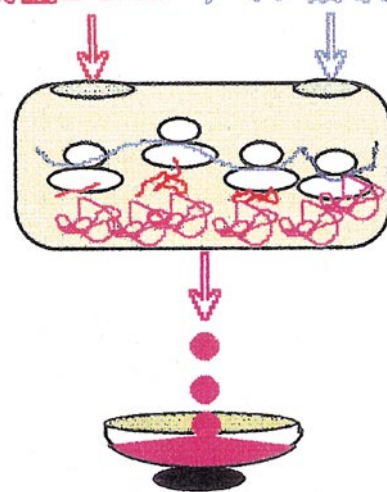
1. 研究の目的

蛋白質を自由自在に合成する技術を開発することは、バイオテクノロジーのみならず、ナノマシンの設計や、ニューラルコンピューターなどの分野における分子素子の開発に大きく貢献することが期待されます。

現在、蛋白質の調製にはクローン化したDNAを生細胞に導入する遺伝子工学的方法が広く利用されておりますが、この方法で生産可能な外来性蛋白質は、宿主の生命維持機構をくぐり抜けられる分子種に限られます。一方、化学合成技術の進展によって、数十個のアミノ酸から成るペプチドを自動合成することも可能になっておりますが、より分子量の大きい蛋白質を得ることは合成収率、副反応などの限界から現在においてもきわめて困難です。

私達は、このような問題点を打破する新しい蛋白質合成法として、生命科学と化学的手法を融合し、生物体の優れた特性を最大限に利用しようとする、無細胞システムの開発を行っております。この方法は、生体の遺伝情報の翻訳系を人工容器内に取り揃え、設計した核酸を鋳型として、非天然型も含む、望みのアミノ酸を取り込むことのできる合成系を再構築するというものです。このシステムでは、生命体の制約を受けることがありませんので、合成可能な蛋白質種を殆ど無限大にまで広げることができるものと期待できます。

鋳型DNA アミノ酸等原料



合成タンパク質

無細胞蛋白質合成システム

2. 研究の内容

細胞をすり潰しても蛋白質合成能が残存することが約40年前に見い出され、この反応系は現在も放射性同位元素を用いた標識実験と組み合わせて遺伝子産物の同定に利用されています。この無細胞系における翻訳速度は、in vivo とほぼ同等であるなど、高速性・正確性に優れた合成反応特性を発揮しますが、しかし系の不安定性から合成収量が生細胞の0.1%程度と低いため、蛋白質の調製法としては実用的ではありません。

本プロジェクトでは、コムギ胚芽をモデル材料として、以下の観点(右流れ図)から高効率無細胞蛋白質合成システムの開発に取り組んでおります。

1) 蛋白質合成系の自殺機構の解明と、その作動阻止技術の開発
コムギ胚芽は勢よく発芽することからも分かりますように、きわめて高い蛋白質合成能力を備えた組織です。しかしすり潰しますと、蛋白質合成は1/1000以下にまで低下してしまいます。私達は、リボソーム不活性化酵素の研究から、この細胞破碎に伴う翻訳活性の低下が対病原微生物防御機構として本来細胞プログラムされた自殺機構の作動に起因することを明かにしてきております。この研究は、リボソーム不活性化の分子機構を解明し、自殺機構の作動阻止技術を開発することから無細胞蛋白質合成の効率化を目指すものです。

2) 効率的翻訳鋳型活性を有する mRNA のデザイン細胞の蛋白質合成反応における主な律速段階は、翻訳開始反応にあると考えられています。本課題は、ウイルス等の高鋳型活性を有する遺伝子構造を解析し、効率的な翻訳活性を持った mRNA をデザインすることです。

3) リボソームの効率的リサイクル化の研究

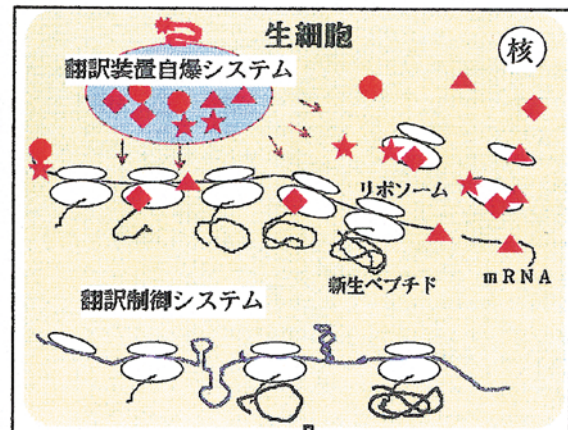
翻訳因子の中でも翻訳終結酵素分子は少数のため、終結反応が蛋白質合成の律速段階となっていることが多い。また、ペプチド鎖伸長段階で RNA 分解酵素による mRNA 鎖の切断事故に起因する翻訳停止現象が明かにされています。この課題は、リボソームの効率的なリサイクル化を達成することを目指して、終結因子と翻訳停止修復に関与する 10S rRNA に関する基礎研究を行っています。

3. 研究体制

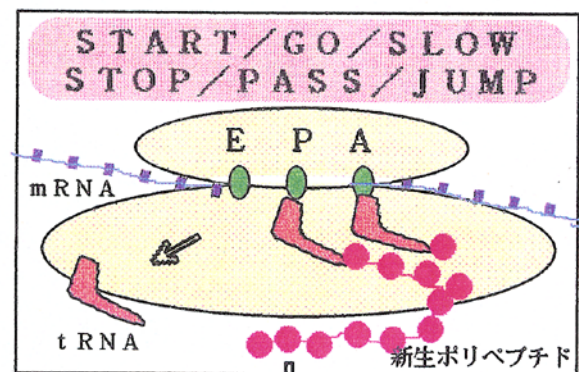
期 間：1996 年 10 月～2001 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー1名、コアメンバー5名、研究協力者15名の構成です。

研究場所：愛媛大学工学部を主拠点、学習院大学生命分子科学研究所を副拠点として、弘前大学、岩手大学、信州大学、東京大学医科学研究所でプロジェクトを推進します。



無細胞系



無細胞タンパク質合成システムの実現



研究成果の波及効果

