



細胞内タンパク質結晶化

自然界の「ジャマモノ」を巧みに利用して分子を精密合成

菊池幸祐 Kosuke KIKUCHI

タンパク質は、DNA を設計図としてアミノ酸が精密に重合された高分子鎖である。タンパク質の秩序正しい集積により形成される結晶は、X 線結晶構造解析に長く貢献してきた。近年では薬剤送達やナノ触媒を目指したタンパク質結晶の機能化も盛んに研究されている。こうした結晶の基本的な合成手法は、カラム精製によってタンパク質を慎重に単離し、わずかな結晶を得ようとするものである。これに対し、本稿では、「細胞内タンパク質結晶化」という特異な現象を利用した迅速・高収率な結晶化とその応用について紹介する。

はじめに

細胞内ではタンパク質が絶えず産生され、生命活動に活用されている。それらは細胞質で適度に分散して触媒や貯蔵、受容体といった固有の機能を発揮することが期待されている。しかし天然には、一部の疾患やウイルス感染の結果としてタンパク質が過剰に産生されて高濃度になり、結晶を形成してしまう例も知られている¹⁾。このような「細胞内タンパク質結晶化」は、見方を変えれば、一般に煩雑かつ低収率の工程であるタンパク質結晶化を、迅速かつ高収率で実現可能にする有益な現象でもある (図 1a)。本稿では、この仕組みを巧みに活用した、タンパク質の合成と結晶の機能化について紹介する。

タンパク質の精密設計と高収量の両立へ

タンパク質の主要な調製方法として、①天然の組織や細胞から抽出する、あるいは②リコンビナントで合成する、の 2 つが挙げられる。前者の代表例にはアクチンやヘモグロビン、抗体などが含まれる。これらは筋肉や血液から高収量で得られるが、アミノ酸配列の

きくち こうすけ

東京科学大学生命理工学院 助教

〔経歴〕2024 年東京工業大学生命理工学院生命理工学系博士後期課程修了、博士 (理学)。同大学生命理工学院助教を経て、同年 10 月より現職。〔専門〕バイオ高分子、タンパク質工学、物理化学。〔趣味〕映画鑑賞、フットサル、登山。

E-mail: kikuchi.k.bea3@m.isct.ac.jp

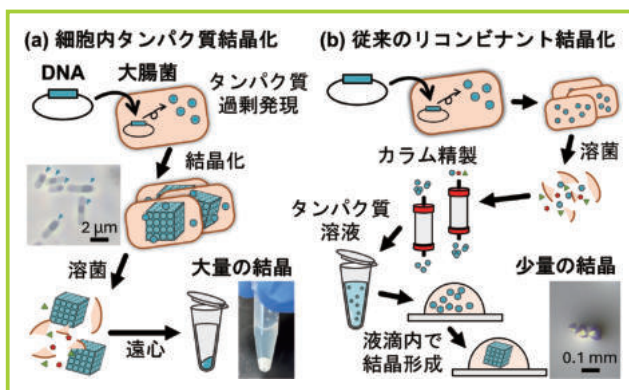


図 1 大腸菌を用いた、(a) 細胞内結晶化による迅速結晶合成と、(b) 従来のリコンビナント合成・結晶化

自在な設計はできない。これに対し、1970 年代の遺伝子組換え技術の開発により、大腸菌や酵母などのモデル細胞に目的のタンパク質を発現させる手法が確立された²⁾。設計図となる DNA を細胞に導入してタンパク質を過剰発現させるこの手法では、アミノ酸 1 つ 1 つを任意の順序で重合できるため、天然には存在しないタンパク質も合成可能となる。しかしながらこの場合、発現後に可溶化やカラム精製などを必要とするため手間と時間がかかり、収量も乏しい (図 1b)。このトレードオフの関係は、タンパク質の精密設計と高収量との両立が求められる結晶化や材料化、さらには、タンパク質を真の機能材料素材として活用するための障壁となっている。

細胞内タンパク質結晶化は、この課題を克服して迅速にタンパク質を合成する手段となりうる。例えば、従来手法では、1 L の培養液から大腸菌を回収・破碎し、目的タンパク質を抽出しても典型的な収量は 10

mg 程度となる。対して細胞内タンパク質結晶の場合、大腸菌重量に対する結晶の割合は 10~30% にも達し、およそ 1 g のタンパク質が得られる。結晶化工程まで含めた作業期間も 5 分の 1 程度になり、迅速かつ高収率な結晶合成が達成できる。

X 線結晶構造解析の足場材料としての応用

この手法を応用する上で、細胞内で結晶化可能なタンパク質が限られている点が大きな制約となっている。そのため、既知の細胞内結晶化タンパク質を出発点としたアミノ酸改変によって、様々な活用法が開拓されてきた。

細胞内で形成したタンパク質結晶には、X 線回折を示すほどに秩序正しく集積した例も多く存在する^{3, 4)}。小島らはこの結晶を多孔性足場として活用し、多角体タンパク質へ融合したペプチドの環境依存的な構造ゆらぎを X 線結晶構造解析によって解明した⁵⁾。その後、「無細胞 (cell-free)」系と組み合わせることでハイスループットな分子設計-結晶合成-構造解析のプロセスを確立し、創薬ターゲットとしても注目される天然変性タンパク質の構造解析にも成功した (図 2a)⁶⁾。これは、細胞抽出液による無細胞系においても結晶化可能なタンパク質を活用したものであり、今後のタンパク質構造解析の加速が期待される。

共発現による機能性固体材料の創製

近年では、タンパク質結晶の多孔性や集密構造に着目し、触媒や分子貯蔵などへの応用も盛んに報告されている。細胞内タンパク質結晶化をこれらの目的で応用する利点は、結晶合成の迅速さと高収率の点にとどまらない。加えて、①細胞内で発現したタンパク質をそのまま封じ込めて共結晶化可能な点、②細胞内タンパク質結晶の多くが示す高い熱・pH 安定性を備えた結晶合成が可能な点がある。最近では、緑色蛍光タンパク質の細胞内取込み⁷⁾や酵素カスケード利用による補酵素 NADH の再生 (図 2b)⁸⁾ などが実証され、多彩な応用の開拓が待ち望まれる。

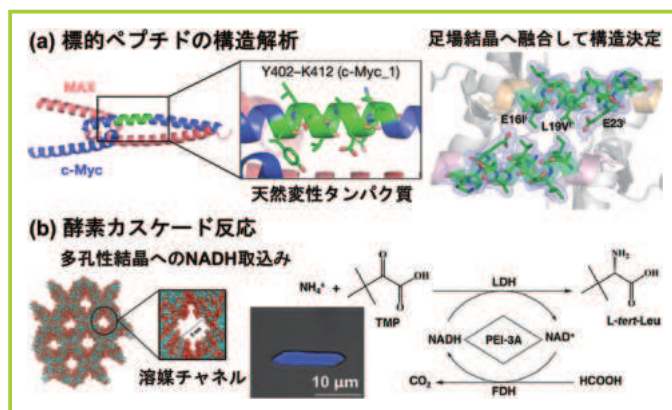


図 2 細胞内タンパク質結晶化の応用例

(a) X 線結晶構造解析⁶⁾ および (b) 酵素カスケードによる NADH の再生⁸⁾。

おわりに

タンパク質結晶の主な用途は、半世紀以上にわたり X 線結晶構造解析であった。天然由来カリコンビナント由来かを問わず、その結晶化には精緻な結晶化条件の最適化と多くの試行錯誤を要し、構造ゆらぎが少なく高純度な結晶の合成に注力されてきた。一方で自然界では、我々の探究とは無関係に、ウイルスや毒素の保護・貯蔵のために細胞内タンパク質結晶の機能が進化してきた。こうした現象について医学・生化学の見地からの関心も尽きないが、本稿では、タンパク質の合成手段という観点から紹介した。今後の研究により、タンパク質工学の新たな深化と、宇宙や砂漠といった過酷な環境下での応用展開を期待したい。

- 1) J. Su, *Molecules* **2018**, 23, 2931.
- 2) S. N. Cohen, A. C. Y. Chang, L. Hsu, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1972**, 69, 2110.
- 3) H. Tsutsui, Y. Jinno, K. Shoda, A. Tomita, M. Matsuda, E. Yamashita, H. Katayama, A. Nakagawa, A. Miyawaki, *Mol. Cell* **2015**, 58, 186.
- 4) R. Schönherr, J. Boger et al., *Nat. Commun.* **2024**, 15, 1709.
- 5) M. Kojima, S. Abe, T. Furuta, D. P. Tran, K. Hirata, K. Yamashita, Y. Hishikawa, A. Kitao, T. Ueno, *Biomater. Sci.* **2023**, 11, 1350.
- 6) M. Kojima, S. Abe, T. Furuta, K. Hirata, X. Yao, A. Kobayashi, R. Kobayashi, T. Ueno, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2024**, 121, e2322452121.
- 7) T. T. Pham, S. Abe, K. Hirata, K. Katayama, T. Ueno, *Chem. Lett.* **2023**, 52, 720.
- 8) R. Yekta, X. Xiong, J. Li, B. S. Heater, M. M. Lee, M. K. Chan, *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, 146, 18817.

© 2025 The Chemical Society of Japan