天然にはない官能基をもつシルクを紡ぎ出す組換えカイコを作出

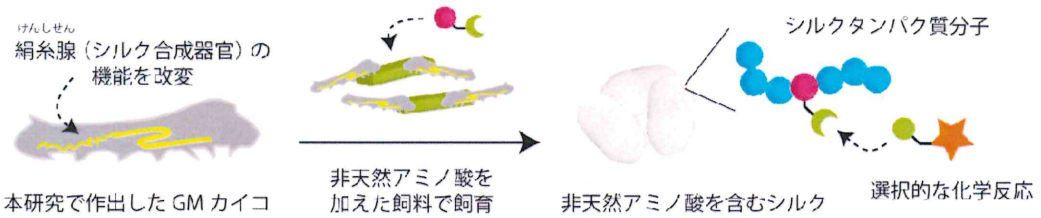
遺伝子組換えカイコによる非天然アミノ酸含有シルクタンパク質の作出
（農業生物資源研）○寺本英敏・小島 桂

[1T08]

（Tel: 029-838-6213）

（独）農業生物資源研究所の寺本英敏主任研究員と小島 桂主任研究員らの研究グループは、天然のタンパク質には存在しない官能基を有するシルク（絹糸）を紡ぎ出す遺伝子組換え（GM）カイコの作出に世界で初めて成功した。作出した GM カイコを用いれば、シルクタンパク質分子の配列中に、例えば選択的な化学反応が可能な官能基を有するアミノ酸（非天然アミノ酸）を導入できる。

シルクは医用材料（例えば、組織再生用のスキャホールドなど）の素材として有望視されているが、求められるあらゆる性質を備えているわけではなく、天然由来であるが故にその性質を変えることも容易ではない。本成果を発展させることで、求められる性質をより自在に、より簡便に付加できるようになると期待される。



非天然アミノ酸の導入によってシルクの性質を変える

シルク利用の現状

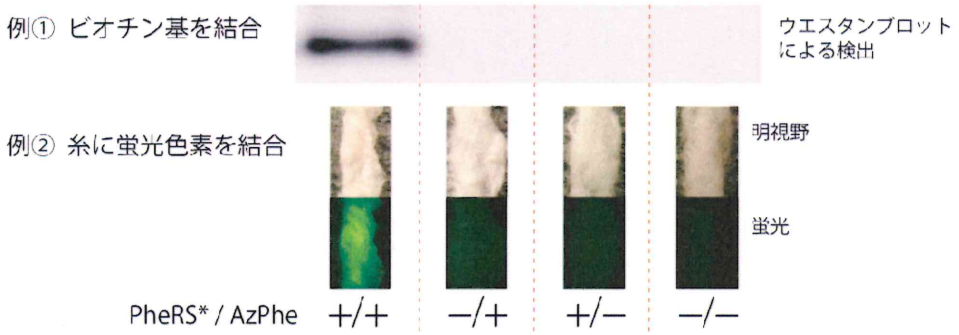
強度・生体適合性にすぐれ縫合糸としても用いられるシルクは人体への安全性が立証されている数少ない天然素材の１つで、近年は医用材料への利用研究が活発である。一方で、カイコにしか生産できない（人工合成できない）素材であるが故に、一から分子構造を設計できない。そこでシルクの性質を改変するために、化学的手法と遺伝子工学的手法が用いられてきた。前者はシルクタンパク質分子への化学反応により性質を大きく改変できるが、反応部位・反応量の制御が困難である。後者は GM 技術により化学反応を用いず機能性を付加できる強力な手法だが、GM カイコの作出に時間を要する、DNA でコードできるペプチド・タンパク質成分しか付加できない、といった制限がある。

非天然アミノ酸をシルクタンパク質分子中に取り込む GM カイコ

我々が作出した GM カイコの絹糸腺（けんしせん）（シルク合成器官）では、フェニルアラニン（必須アミノ酸の１種）をタンパク質合成に取り込ませる酵素であるフェニルアラニル-tRNA 合成酵素の変異体（PheRS*）を発現させている。この PheRS*は、フェニルアラニンの芳香環上に置換基が結合した複数の非天然アミノ酸を認識するように改変されている。認識される非天然アミノ酸の一つであるアジドフェニルアラニン（AzPhe；置換基としてアジド基（$-N=N^{+}=N^{-}$）をもつ）を GM カイコに投与すると、産生されるシルクタンパク質分子中のフェニルアラニンの一部が AzPhe に置き換わった。

導入したアジド基への選択的な化学反応

アジド基は天然タンパク質には存在せず生体環境において安定であるが、特定の官能基に対しては選択的に反応する。実際にシルクタンパク質分子中に導入したアジド基に対して末端アルキン（$-C\equiv CH$）を有する化合物との反応（クリック反応）を行ったところ、PheRS*を絹糸腺で発現する GM カイコに AzPhe を投与して得られたシルク（下記例の左端）においてのみ反応が進行し、機能性分子が導入された。



クリック反応によりシルクへ機能性分子を導入する

本手法の特徴

アジド基はシルクタンパク質分子中の本来フェニルアラニンがある部位にのみ導入されるため、反応部位・反応量の制御が容易になる。クリック反応はシルクにダメージを与えない穏和な条件で実施でき、結合させる分子としてはタンパク質・ペプチド・ポリマー鎖・薬剤・色素・糖鎖・脂質・架橋分子・キレート分子などあらゆるものが想定できる。

また本手法による非天然アミノ酸の導入は、カイコの絹糸腺で発現されるシルク以外の組換えタンパク質にも広く適用できる。

＜適用分野＞　組織再生用スキャホールド，高強度・高機能繊維，インジェクタブルゲル，ドラッグデリバリー担体，酵素固定化担体，組換えタンパク質生産など

*本研究は JSPS 科研費 24688008（若手研究 A）の助成を受けたものです。