

ヒト β アクチンの大腸菌による発現

β アクチンは筋肉以外の細胞に多く存在するアクチンで、細胞が形を保ったり移動したりすることに深くかかわっています。これまで細胞レベルで多くの研究がなされてきましたが、分子レベルでの研究は、このタンパク質が組織からの精製が難しいことから思うようにできませんでした。遺伝子工学での調製を試みた人もいましたが、このタンパクが重合しやすいこと、またプロテアーゼによる加水分解を受けやすいことからうまく行きませんでした。さらにmRNA上に偽SD配列があることから、大腸菌での発現において転写が途中から始まってしまい、全長のタンパク質が採りにくかったことも要因でした。

私達はNox酵素と β アクチンとの関係を調べるために、初めは市販の β アクチンを使っていましたが、これは米国の専門メーカーが精製したもので、非常に高価でした。そこで何とか安く手に入れられないかと考えた末、自分達で組み換えタンパク質をつくることに挑戦したのです。

まずヒト β アクチンのcDNAを米国のアクチン研究者から送ってもらいましたが、その時の彼の反応は、そんなことができるのか、と半信半疑でした。私たちは上述の問題点をひとつひとつクリアーしてゆきました。最終的には β アクチンのcDNAを低温ベクターに組み込み、大腸菌で発現させたあと、重合や加水分解を防ぐ数々の工夫をして、かなりの収率で純粋なヒト β アクチンを得ることに成功しました。できた β アクチンは重合条件にするときちんと重合し、正しくホールディングされていることがわかりました。さらにこの方法を使って重合しないアクチン変異体も作成しました。

こうして世界で初めて組換えアクチンを簡便で安価につくる方法を確立しましたが、この方法はアクチンタンパクを使って研究をしたい国内外の研究者たちに喜ばれ、論文発表以来、世界中の研究グループから発現プラスミドを送って欲しいという依頼が続いています。

発表: Tamura *et al.* (2011) *Protein Expr. Purif.* 78, 1-5 (詳細はPublicationsを参照して下さい)