

亜熱帯生物資源の高度利用技術の開発

タンパク質脱リン酸化酵素2A(PP2A)の遺伝子工学による生産と利用開発

研究者名(所属機関) 池原 強、新城 富喜子、池原 さつき、今村 志穂子、安元 健
(株式会社トロピカルテクノセンター)

◆PP2Aの遺伝子工学による生産に初めて成功し、貝毒判別キットなどの用途を開発した

1. 本研究の目的

プロテインホスファターゼ2A(PP2A)は体内シグナル伝達に重要な役割を果たしており、タンパク質のセリン・トレオニン残基に結合したリン酸基を加水分解する酵素の中でも最も基本的な酵素の一つである。そのため、生化学試薬として大きな需要がある。さらに、その活性は下痢性貝毒のオカゲ酸や藍藻が産生する肝臓毒として知られるミクロシチンによって強力に阻害されることが知られている。そこで、生化学試薬及び、これら貝毒、藍藻毒の高感度検出試薬として有用性が非常に高いPP2Aの大量生産を遺伝子工学の手法によって試み、PP2Aを試薬とした簡易検出キットを作製し、製品化を行うことを目的とする。

2. 研究内容

本研究開発では、PP2Aを産業利用の目的で供給するための大量調製方法の確立を試みた。タンパク質の大量調製を行うための系としてよく知られている大腸菌発現系及び、バキュロウイルス-昆虫細胞発現系を用い、PP2Aの発現条件の検討、細胞の培養方法、酵素の抽出・精製方法等の検討を行うことで実用化に向けたPP2Aの大量生産技術の開発を行った。また、生産したPP2Aの利用開発として、PP2Aを構成試薬とした天然毒(下痢性貝毒、藍藻毒)簡易検出キットの開発を行った。キットの開発に向けて、酵素の保存安定性試験を含めた使用方法の検討を行った後、下痢性貝毒及び藍藻毒検出キットの試作品を作製し、測定精度の検証を行い、製品化に向けた品質評価を行った。

3. 研究成果

バキュロウイルス-昆虫培養細胞発現系を利用することでPP2Aをリコンビナントタンパクとして大量に発現・精製することが可能になった。また、生産したPP2Aの利用開発として、PP2Aを構成試薬とした下痢性貝毒、藍藻毒の簡易検出キットの開発を行い、検出感度の高い天然毒(下痢性貝毒及び藍藻毒)検出キットの試作品を完成することが出来た。世界公定法としての承認に向けて作業を進めている。

・特許出願 2件

- (1)プロテインホスファターゼ2A型酵素ヘテロ2量体誘導体の製造方法(PTC/JP2004/16256)
- (2)プロテインホスファターゼ2A型酵素ヘテロ2量体誘導体の製造方法(PTC/JP2005/21011)

・論文発表 2件

- (1) Tsuyoshi Ikehara, Fukiko Shinjo, Satsuki Ikehara, Shihoko Imamura, Takeshi Yasumoto, Baculovirus expression, purification, and characterization of human protein phosphatase 2A catalytic subunit α and β . Protein Expr Puri 45 (2006) 150-156.
- (2) Tsuyoshi Ikehara, Satsuki Ikehara, Shihoko Imamura, Fukiko Shinjo, Takeshi Yasumoto, Methylation of the C-terminal leucine residue of the PP2A catalytic subunit is unnecessary for the catalytic activity and the binding of regulatory subunit (PR55/B). Biochem. Biophys. Res. Commun. 354 (2007) 1052-1057.

・学会発表 7件

- (1) 第78回日本生化学会(2005.10) 2件
- (2) 第28回日本分子生物学会(2005.12) 2件
- (3) 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology(2006.6) 1件
- (4) 日本プロテインホスファターゼ研究会第3回国内集会(2007.3) 1件
- (5) 121st AOAC Annual Meeting & Exposition (2007.9) 1件

4. 今後の展開

この研究は、平成18年度沖縄県産学官共同研究推進事業へ引き継がれ、下痢性貝毒の簡易検出キットの製品化を行った後、現在は平成19年度地域新生コンソーシアム事業に引き継がれ、藍藻毒の簡易検出キットの開発を行い、製品化に向けた取り組みが行われている。さらに、製品化された下痢性貝毒検出キットに関しては国際的な公定法としての承認に向けた取り組みが行われている。

