

進化分子工学でリスクと戦う

松浦 友亮

我々は常にさまざまな危険（リスク）の中で生活している。そのリスクを回避、もしくは軽減するのも研究者の役割の一つである。日本で生物工学を専門とする我々が対峙すべきリスクは、豊かさを追求したことで発生したものが多く、例としては、環境問題、エネルギー問題、食料問題などがあげられる。一方で、対峙すべきリスクは住む地域、世界によって大きく異なる。現代においても、化学兵器による攻撃というリスクが現実存在する世界がある（らしい）。本稿では、サリンなどの有機リン系の神経ガスによる攻撃により受けるダメージを軽減、回避するための研究^{1,2)}について紹介したい。ご存知のように、サリンは約20年前の地下鉄サリン事件で使われた神経ガスであり、日本においても問題となった物質である。

サリン、シクロサリンなどに代表されるG-typeの神経ガスは、生体内のアセチルコリンエステラーゼ（AcChE）を不活性化することで毒性を発現する。神経伝達物質であるアセチルコリンは、神経細胞から他の神経細胞や筋肉細胞への情報伝達に用いられている信号物質である。アセチルコリンは、その役目を終えると速やかにAcChEにより分解され、一度信号伝達に用いられたアセチルコリンが、次の信号と混線しないようにしている。ところが、G-type神経ガスは、AcChEの活性部位に共有結合することでこれを不活性化する。これにより、神経を伝わる信号はONのまま維持されてしまい、これが非常に強い毒性を誘起する原因となっている。この神経ガスに対する耐性を獲得する、もしくはこれを無毒化するには、どうしたらよいのだろうか？一つの解として、神経ガスがAcChEを不活性化する前に、これを酵素により分解する方法が考えられるが、実際に利用可能な酵素は世に存在しない。

Tawfikらのグループでは、有機リン酸化合物を分解する酵素を、進化分子工学を用いて作り出すことで、この難題に対する解決策を見出すことを試みた^{1,2)}。進化分子工学的手法は、ダーウィン進化を実験室で模倣し、生体高分子に変異と選択のプロセスを繰り返し行うことで、生体高分子を改変、改良、進化させる手法である。本手法は、1990年代頃から盛んに用いられるようになり、古くは有機溶媒耐性酵素の開発、最近では、製剤調製用酵素の開発、MRI（核磁気共鳴画像法）でドーパミンをライブイメージングするための試薬の開発などにも用いられている^{3,4)}。本稿では、本手法を用いて、神経ガス分解酵素を開発した研究について紹介する^{1,2)}。

これらの研究では、進化させる出発配列として、PON1を用いた。PON1を出発配列に選んだ理由にも、興味深い背景があるのだが、ここでは参考文献を紹介す

るに留める⁵⁾。PON1はHumanの肝臓や血液に存在するLactonaseであるが、この酵素は微弱ながらも有機リン酸化合物を分解する活性を有することが知られていた。ただし、神経ガスには、 S_p と R_p の光学異性体があり、酵素活性（ k_{cat}/K_M ）は、 R_p の分解活性のほうが高かった。これに対して、生体毒性は、 S_p のほうが高い。そこで、PON1に変異と選択のプロセスを人為的に行い、特異性が反転し、かつ分解活性の高い酵素を作ることを目指した。ただし、有機リン酸化合物としては、安全性と検出の簡便化のため、シクロサリンではなく、毒性の低いシクロサリンのクマリン誘導体を用いた。その結果、クマリン誘導体を用いたにも関わらず、シクロサリン（ S_p ）を $k_{cat}/K_M=3 \times 10^5$ （ $M^{-1} \text{ min}^{-1}$ ）もの速度で分解する変異体の取得に成功したり¹⁾。先の研究でシクロサリンだけを対象としていたが、その後の研究で、サリン、Soman、Tabun、VXガスなども分解可能な酵素の開発にも成功している²⁾。さらに、開発した酵素の有効性を動物実験でも確認している。4E9という変異体酵素をマウスに処方し、その1時間後に有機リン酸（シクロサリンクマリン誘導体）に暴露し、生存率を測定した。その結果、4E9を供与されたマウスの2週間後の生存率が約60%であったのに対し、供与されなかったものでは0%であった。

昆虫は有機リン酸系殺虫剤に対する耐性を自然選択の結果として獲得できることが知られているが⁶⁾、本稿で紹介した論文は同様のことが実験室で達成できることを示している。すなわち、進化分子工学で神経ガス攻撃というリスクと戦えることを示している。ただ、現実世界において、誰が、どのような状況で、どのようにして、この酵素を使用するのかは、私には想像がつかない。世界にはさまざまなリスクが存在する。生物工学がどのように、リスクを回避、もしくは軽減し、世界平和に貢献できるか。本稿で紹介した研究はその一例であろう。私とはいうと、締め切りとの戦いに破れ、それについてお叱りを受けるリスクをどうやって回避できるかを考えている。残念ながら、進化分子工学は、この種のリスクには無力である。

- 1) Gupta, R. D. *et al.*: *Nat. Chem. Biol.*, **7**, 120 (2011).
- 2) Goldsmith, M. *et al.*: *Chem. Biol.*, **19**, 456 (2012).
- 3) Turner, N. J.: *Nat Chem. Biol.*, **5**, 567 (2009).
- 4) Matsuura, T. and Yomo, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **101**, 449 (2006).
- 5) Arnold, F. H.: *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, **74**, 41 (2009).
- 6) Newcomb, R. D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 7464 (1997).