

微生物結晶性タンパク質の機能

浴野 圭輔

現在の世界人口は約75億人であり、今後も増加すると予想されている。人口の増加に伴いさまざまな問題が起こることが指摘されているが、そのうちのひとつに食糧問題がある。フードロスなどの複雑な問題もあり一面だけでは判断できないが、解決策としては単純に収穫量を増やすことが考えられる。自然災害、病害虫、鳥獣害などのさまざまな要因が収穫量に影響するが、病害虫対策として遺伝子組換え作物の栽培が年々増加している。代表的なものは害虫抵抗性や除草剤耐性のトウモロコシや大豆などである。害虫抵抗性の作物には微生物由来の殺虫タンパク質遺伝子が導入されている。

Bacillus thuringiensis (BT) はグラム陽性桿菌であり、菌体内にタンパク質の塊“結晶性タンパク質”を形成し、その中にはさまざまな昆虫に対して殺虫活性を示すタンパク質が含まれている。それらのうち、ある種のタンパク質遺伝子を組み込んだものが害虫抵抗性作物である。BTは1901年に蚕の病原菌として発見され、その後さまざまな昆虫に対して殺虫活性を示す菌株が次々に発見された。多様な殺虫タンパク質を生産することからBTは昆虫病原微生物として認識され、60年以上にわたり微生物殺虫剤として世界中で広く利用されてきた。殺虫タンパク質は現在までに800種類以上が発見され、アミノ酸配列の相同性により78種類のグループ (Cry1～Cry78) に分類されている¹⁾。

このように殺虫タンパク質として長い基礎研究と実用研究の歴史があるBTの結晶性タンパク質ではあるが、自然界に存在するBTの多くは菌体内に結晶性タンパク質を形成するものの、殺虫活性を示さないこともわかっている。このような中、1999年に福岡県工業技術センターのMizukiらはこれら非殺虫性の結晶性タンパク質の中に培養がん細胞に損傷活性を示すタンパク質が含まれていることを発見した²⁾。これらは現在Parasporin (PS) とよばれ、「*B. thuringiensis* および近縁の細菌が産生する結晶性タンパク質のうち溶血活性を示さず、がん細胞に選択的な細胞損傷活性を示すもの」と定義されている。PSは現在までに19種類が発見されており、Cryタンパク質と同様に構造の類似性から6種類のグループ (PS-1～PS-6) に分類されている³⁾。これらPSは、培養細胞の種類によって損傷活性の強さがそれぞれ異なり、特異な細胞選択性を示す。たとえば、PS-1はヒト由来の最

初の細胞株として広く研究に用いられているHeLa細胞に対して0.12 μg/mLで50%の細胞に損傷活性 (EC₅₀) を示すが、ヒト子宮内膜腺癌の細胞株であるSawano細胞にはほとんど活性を示さない。一方、PS-2のHeLa細胞に対するEC₅₀は2.5 μg/mL程度であるのに対し、Sawano細胞に対するそれは0.0017 μg/mLと非常に強力に作用する。このように6種類のPSそれぞれが培養細胞に対して異なる選択性を示す。いずれも前駆体タンパク質として生産された後、Proteinase Kなどのプロテアーゼによってプロセシングされ、活性型となる。さらに、6種類のPSは活性型分子質量の違いによって、2つのタイプに大別できる。すなわち、70 kDa前後のもの (PS-1, -3, -6) と30 kDa前後のもの (PS-2, -4, -5) である。そのうち、解析が進んでいる細胞損傷機構については以下の通りである。PS-1については、細胞外からのカルシウムの流入によってアポトーシスを引き起こすことが明らかとなっており、細胞膜上に存在するアポトーシスとオートファジーの関連因子Beclin-1を受容体として結合すると考えられている。一方、PS-2は膜孔形成毒素 [β-Pore-Forming Toxin (PFT)] であり、細胞膜上で多量体化し、膜貫通孔を形成することが明らかとなっている。以上のように、それぞれのPSは特異な細胞選択性を示し、その損傷機構も異なっている⁴⁾。

このようにPSは非常にユニークな生物活性を持つタンパク質であり、現在も世界中で探索が行われているが、2010年にPS-6が報告されて以来、新しいPSの報告はない。しかし、これまで盛んに研究されてきた殺虫タンパク質の多様性を考えると、まだ見つかっていないPSが存在するものと予想され、その発見が期待される。また、ある種の結晶性タンパク質中にはレクチン活性を示すタンパク質の存在も知られており⁵⁾、今後の研究次第ではさらに新たな生物活性を有する微生物結晶性タンパク質が見つかる可能性も考えられる。

- 1) Bt Toxin nomenclature: <http://www.btnomenclature.info/> (2019/5/2)
- 2) Mizuki, E. *et al.*: *J. Appl. Microbiol.*, **86**, 477 (1999).
- 3) Okassov, A. *et al.*: *J. BUON*, **20**, 5 (2015).
- 4) Akiba, T. and Okumura, S.: *J. Invertebr. Pathol.*, **142**, 44 (2017).
- 5) Akao, T. *et al.*: *J. Basic Microbiol.*, **41**, 3 (2001).