



# タンパク質凝縮体： 新規物質創成を目指した汎用的方法論

野島 達也

## 背景

近代のタンパク質科学研究では、単離精製したタンパク質を用いて進められる伝統的な生化学的手法や分子観察技術などにより、タンパク質分子の詳細な解析が進んでいる。一方で、実際の生体や細胞内ではタンパク質は集合体を形成して働いていることが多いが、このような集合体を再現し制御することは未だ困難である。精緻な構造と多様な機能性を持つタンパク質には新物質創成のための素材としての高い可能性が秘められている。タンパク質集合を自在に制御することは生化学的解析のみならず材料科学の発展にも寄与する。水溶性タンパク質を素材として実用的な巨視的スケールの材料を作製するためには、水中に分散するタンパク質分子を高度に集合させなければならない。また、タンパク質のナノスケールの構造特性を、メソ・マクロスケール物質の物性と

て反映させるためには、タンパク質集合はランダムではなく制御される必要がある。新規物質創成を指向したタンパク質の集合・集積方法がさまざまなグループより報告されているが、それらの技術は個別のタンパク質に特化・最適化されたものであるため汎用性が低く、タンパク質を用いた物質創生の基盤技術となりえない。筆者は独自に開発したタンパク質分子集合の汎用的方法論に基づき、タンパク質の秩序的集合によって形成される液状物質「タンパク質凝縮体 (Protein Condensate)」を開発した (図1)<sup>1)</sup>。

## タンパク質凝縮体

タンパク質凝縮体の作製は非常に簡便である。対象となるタンパク質の表面電化に応じて、陰イオンおよび陽イオン性界面活性剤 (親水部としてPEG鎖、疎水部としてアルキル鎖を持つ) をタンパク質水溶液へ一定量比で加えることで、水相から相分離した液状物質としてタンパク質凝縮体が瞬時に発生する。一般的に界面活性剤はタンパク質と疎水的に会合することでタンパク質の水溶性を向上させるが、タンパク質凝縮体形成の場合はタンパク質と界面活性剤は静電相互作用により複合化する。この複合体ではタンパク質周囲に界面活性剤の親水部、その外側に疎水部が位置しており、複合体同士が疎水相互作用により集合することでタンパク質凝縮体が形成される。界面活性剤がスパーサーとなることで、タンパク質同士が直接に接触・凝集することなく、自発的に一定間隔での高密度のタンパク質集合が達成される。このときタンパク質濃度は400 mg/mL以上と非常に高い値に達する。

タンパク質凝縮体は全体としては水相と相分離した物質であるが、タンパク質周囲に位置するPEG鎖により内部に水を保持し、内部のタンパク質は水に囲まれた環境にある。そのためタンパク質は変性することなく水溶液中と同様の構造と機能が保たれる。水溶性ゲル化剤 (アクリルアミド) を導入することでタンパク質凝縮体をゲル化させることも可能であり、酵素活性触媒を有するゲルの作製などへ応用することができる。

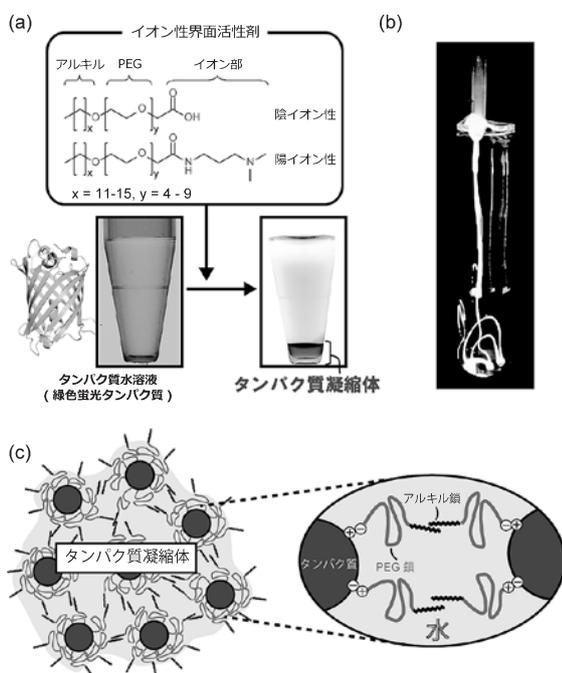


図1. (a) タンパク質凝縮体の作製スキーム。例として緑色蛍光タンパク質を用いた場合。 (b) タンパク質凝縮体の流動性。ピペットで回収し水に滴下した際の挙動。 (c) タンパク質凝縮体の構造モデル。

## 技術の汎用性

タンパク質凝縮体作製の方法論の大きな特徴はその高い汎用性にある。タンパク質の等電点や表面電荷に応じて加える界面活性剤の量比を最適化することで、酵素・蛍光タンパク質・抗体などの機能・構造・分子量の違う、さまざまなタンパク質からタンパク質凝縮体を作製することができることを示した。さらに、タンパク質凝縮体作製は精製・単離したタンパク質のみからではなく、タンパク質混合体からも作製が可能であることから、大腸菌抽出液をタンパク質源として用いてプロテオーム解析を組み合わせることで、700種類以上のタンパク質がタンパク質凝縮体を形成可能であることが示され、本方法論が高い汎用性を有することを明らかにした<sup>2)</sup>。

## タンパク質凝縮ゲル

近年、次世代の材料として高強度タンパク質材料が注目を集めている。蜘蛛の糸などの応用利用などが盛んに研究されているが、筆者らはタンパク質凝縮体の原理を応用し、卵白タンパク質より高強度タンパク質ゲル材料を開発した(図2)<sup>3)</sup>。

卵白の主成分はタンパク質であり、加熱すると熱変性

したタンパク質の凝集によってネットワーク構造が形成されてゲル化する(ゆで卵ができる)。タンパク質の変性と凝集は水中でランダムに発生する現象であるため、ネットワーク構造は不均一となり、脆いゲルが形成される。一般にネットワーク均一性の高いゲルは優れた強度を示す。そこで卵白タンパク質をタンパク質凝縮体化させ、一定間隔に集積させた後に加熱ゲル化させれば、タンパク質のランダムな凝集が抑制されネットワーク構造の均一性が向上し強度の高いゲル材料を作製できると考えた。

未精製の卵白タンパク質溶液より作製したタンパク質凝縮体を加熱すると、ゆで卵と同様にゲル化した。適当な型に流し込んだうえで加熱することで、任意の形状のゲルを得ることもできる。このゲルはタンパク質分解酵素によって分解されることから、タンパク質によってネットワーク構造が形成されていることが確認された。ゲルの圧縮試験を行ったところ、ゆで卵の白身は170倍となる35 MPaの圧縮破壊強度を示した。また、引張試験においては3.6倍という高い変形性を示した。これらの試験の結果から、タンパク質が秩序的に集積したタンパク質凝縮体状態からの熱変性によって高強度ゲルを得るという筆者らの構想が正しいことが支持された。

## まとめ

タンパク質のような複雑な形状のナノ構造体が、2種類の界面活性剤と混ぜるだけで、秩序的な集合構造を形成することは、タンパク質科学のみならず、高分子・コロイド界面化学や分子集合の新たな方法論として新規性が高く、その汎用性と合わせてタンパク質を用いた物質創成の基盤となる技術だと考えている。機能と構造を保った高タンパク質含有量の液状物質を作製する手法としてタンパク質の分画・保存、酵素触媒材料や抗体医薬品の開発などへの応用が期待される。

## 文献

- 1) Nojima, T. and Iyoda, T.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **56**, 1308 (2017).
- 2) Nojima, T. *et al.*: *Biomacromolecules*, **20**, 539 (2019).
- 3) Nojima, T. and Iyoda, T.: *NPG Asia Materials*, **10**, e460 (2018).

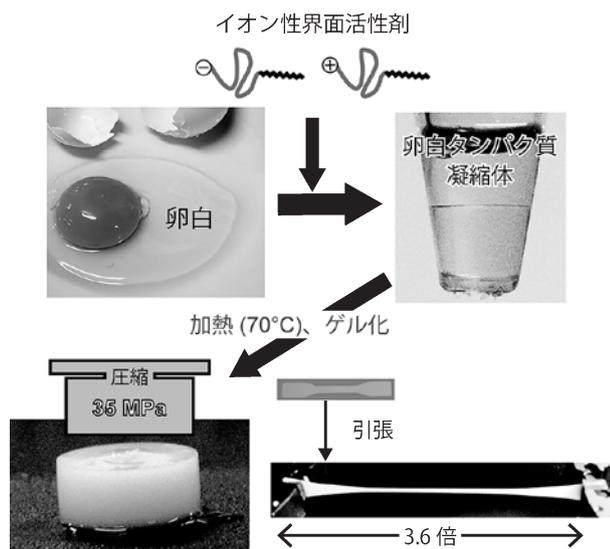


図2. 卵白からのタンパク質凝縮体形成とその加熱により作製したゲル材料の力学的試験。