

芳香族化合物による酸化的タンパク質フォールディング促進効果

(東農工大院工¹・徳島大先端酵素学研究所²・東北大多元研³・東北大学際研⁴・KISTEC⁵) ○松本 陽佑¹・松崎 元紀²・稲葉 謙次³・奥村 正樹⁴・村岡 貴博^{1,5}

Promotion effects of aromatic compounds on oxidative protein folding (¹*Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*, ²*Institute of Advanced Medical Sciences, Tokushima University*, ³*Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University*, ⁴*The Frontier Research Institute for Interdisciplinary Sciences, Tohoku University*, ⁵*KISTEC*) ○Yosuke Matsumoto¹, Motonori Matsusaki², Kenji Inaba³, Masaki Okumura⁴, Takahiro Muraoka^{1,5}

In order for a protein to form an active and thermodynamically most stable conformation, called a native form, a protein chain is folded by interactions at amino acid residues. This process is called protein folding. Unfortunately, inactive misfolded proteins can occur, resulting in developments of structures other than active proteins, such as inclusion bodies and amyloids. In the production of proteins that are widely utilized in industrial applications, misfolded proteins cause a decrease in yields of target proteins. Therefore, there is a need for techniques to control protein folding and produce target proteins efficiently.

In this study, we focused on disulfide bonds, which are the only covalent bonds involved in protein folding and contribute significantly to formation and stabilization of native forms. Disulfide shuffling, in which disulfide bonds are cleaved and recombined in different pairs of cysteines from native forms, is expected to improve efficiency of protein folding to native forms that are thermodynamically most stable. We developed disulfide bond-cleaving reductants as oxidative protein folding promoters. In particular, protein folding promotion effects of thiol compounds with aromatic rings were evaluated and compared.

Keywords : Protein; Oxidative Folding; Disulfide Bond; Thiol; Enzymatic Activity

タンパク質が活性で熱力学的に最安定な天然構造を構築するには、アミノ酸残基間の相互作用によってタンパク質分子鎖を折りたたむ必要がある。この過程がタンパク質フォールディングである。しかし、不活性なミスフォールドタンパク質が生じ、封入体やアミロイドといった活性タンパク質以外の構造体が構築されることもある。幅広い分野で利用されるタンパク質の生産において、ミスフォールドタンパク質は目的タンパク質の収量を低下させる原因となる。そのため、タンパク質フォールディングを制御し、目的タンパク質を効率的に生産する技術が求められている。

そこで我々は、タンパク質フォールディングに関与する唯一の共有結合であり、天然構造の形成とその安定化に大きく寄与しているジスルフィド結合に着目した。天然構造とは異なるシステインの組み合わせによるジスルフィド結合を切断し、再結合させるジスルフィドシャッフリングを促進させることで、熱力学的に最安定な天然構造へのフォールディング効率が向上すると考えられる。よって、ジスルフィド結合を切断する還元剤を酸化的タンパク質フォールディング促進剤として開発した。特に、芳香環を有するチオール化合物についてフォールディング促進効果を評価し、その比較を行った。