

タンパク質相互作用解析に利用可能な新たなツールを開発 ー全タンパク質レベルでの簡便な相互作用解析が可能ー

1. 背景

生体内においてタンパク質は生物にとって必要不可欠な数多くの生理機能を制御しています。ヒトには 20,000 種類以上のタンパク質が存在し、それぞれが異なる役割を担っています。これらのタンパク質は単独ではなく、他のタンパク質と相互作用することでその役割を果たしています。近位依存性ビオチン標識(BioID)技術は、この相互作用するパートナータンパク質を探し出すための技術です。この技術では、BioID 酵素をあるタンパク質に融合することにより、そのタンパク質と相互作用するタンパク質がビオチンと呼ばれる化学物質で標識され、それらビオチン化されたタンパク質を特定することによりそのタンパク質と相互作用するタンパク質を網羅的に同定することができます。

これまで、3 種類の BioID 酵素(BioID、BioID2、TurboID)が開発・利用されてきました。しかしながら、BioID 及び BioID2 は 16 時間以上の長い反応時間を必要とし、TurboID は相互作用していないタンパク質までもビオチン標識してしまうという問題点がありました。そのため、それらを改善した新たな BioID 酵素が求められていました。

2. 研究成果

本研究では、タンパク質相互作用解析技術である近位依存性ビオチンに利用できる新たなビオチン化酵素を開発しました。静岡県立大学のコンピューターを用いたゲノムデータに基づく進化工学的な手法により、大腸菌が持つビオチン化酵素(BirA)の配列から祖先型配列と呼ばれる新たなビオチン化酵素の配列を設計しました。設計された新規 BioID 酵素を AirID と名付け、ビオチン化活性および特異性、細胞への毒性を解析しました。その結果、AirID は 3 時間以内のビオチン化を可能とし、24 時間反応させたとしても、非相互作用タンパク質をビオチン化しないこと、細胞毒性を一切示さないことが確認されました。これらの結果から、AirID は短時間から長時間の反応に幅広く利用でき、汎用性が高いビオチン化酵素であると言えます。AirID は質量分析による相互作用解析にも利用され、相互作用解析のための新たなツールとなり得ることも確認されました。

3. 波及効果

AirID は高い活性と特異性を有し、細胞毒性の低い酵素であることから、細胞や動物・植物個体を用いた相互作用解析に利用しやすい酵素であると言えます。また、BioID 技術は単純な相互作用解析のみならず、相互作用が関与する幅広い解析に利用可能です。実際、論文においても、タンパク質相互作用阻害剤の評価や 3 種類以上のタンパク質が形成する複合体の解析、Molecular Glue

と呼ばれる化合物を介した相互作用解析にも成功しています。これらの結果から、AirID はタンパク質相互作用に関係する幅広い分野での利用が期待されます。

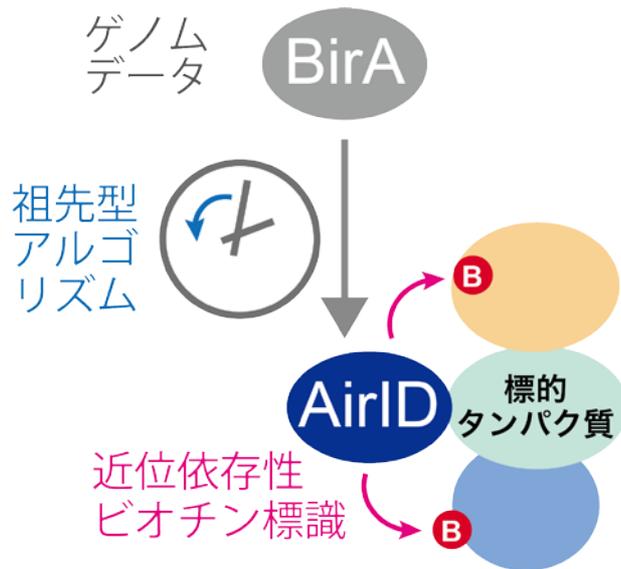


図 1.祖先型酵素 AirID による相互作用タンパク質のビオチン標識

4.研究体制と支援について

本研究は、愛媛大学 プロテオサイエンスセンター、静岡県立大学 食品栄養科学部、徳島大学 先端酵素学研究所 藤井節郎記念医科学センターとの共同研究としておこなわれました。

また、研究の実施にあたっては、日本学術振興会(JSPS) 科学研究費助成事業、新学術領域研究「数理解析に基づく生体シグナル伝達システムの統合的理解」、武田科学振興財団、日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (BINDS)「コムギ無細胞系による構造解析に適した複合体タンパク質生産・調製技術と低分子抗体作製技術の創出」の支援を受けました。

5.論文タイトルと著者

タイトル: AirID, a novel proximity biotinylation enzyme, for analysis of protein-protein interactions

(和訳) タンパク質相互作用解析を目的とした新規近位依存性ビオチン化酵素 AirID の開発

著者: 城戸 康希 (愛媛大学), 山中 聡士 (愛媛大学), 中野 祥吾 (静岡県立大学), 茂谷 康 (徳島大学), 篠原 颯太 (愛媛大学), 野澤 彰 (愛媛大学), 小迫 英尊 (徳島大学), 伊藤 創平 (静岡県立大学), 澤崎 達也 (愛媛大学)

掲載誌: eLife

Journal link: <https://elifesciences.org/articles/54983>

掲 載 日 : 2020 年 6 月 18 日 (木)

本件に関する問合せ先

愛媛大学プロテオサイエンスセンター

教授 澤崎 達也

TEL: 089-927-8530

Mail: sawasaki@ehime-u.ac.jp

用語説明

1) 近位依存性ビオチン標識(BioID)

タンパク質相互作用解析技術の一つ。BioID 酵素を融合したタンパク質を発現させ、ビオチンを添加するだけの簡便な反応により、全タンパク質レベルの網羅的な相互作用解析を可能とする。簡便かつマイルドな条件での解析が可能であり、生きた細胞や生物個体を用いた解析も可能なため、大変注目されている。

2) ビオチン

本来はビタミンの一種であるが、タンパク質の標識によく利用されている化学物質。アビジンと呼ばれるタンパク質と強力な相互作用を形成することが知られており、ビオチン標識したタンパク質はアビジンを用いて容易に回収できる。