



# Synergistic effects of detergents and organic solvents on protein refolding: Control of aggregation and folding rates

タンパク質リフォールディングに対する界面活性剤と有機溶媒の相乗効果：  
凝集と折畳みの速度調節

(JBB, Vol. 111, No. 1, 10–15, 2011)

山本 悦司<sup>1,2</sup>・山口 哲志<sup>1\*</sup>・長棟 輝行<sup>1,3</sup>

タンパク質に関する基礎研究からタンパク質性医薬品の製造現場までの幅広い研究分野において、タンパク質の凝集はきわめて深刻な問題である。たとえば、目的タンパク質を大量発現させた際に、目的タンパク質の凝集物しか得られず、研究が円滑に進まないことが多々ある。タンパク質の製剤化や運搬、貯蔵の過程での凝集が、製品化を妨げている例も多い。これらは、タンパク質が変性またはフォールディングする過程で、本来分子内部に埋もれているはずの疎水性ドメインが分子表面に露出し、強力な分子間疎水性相互作用によって凝集するためである。生体内では、このような不可逆的な凝集を、分子シャペロンと呼ばれるタンパク質群が適切に抑制し、機能の発現を介助している。したがって、*in vitro*で分子シャペロン様の効果を発揮する人工小分子を創成できれば、タンパク質に関わる科学や産業の進展に多に貢献できる。

タンパク質の凝集抑制剤は、国内外を問わず、昔から広く研究されてきた<sup>1)</sup>。有機小分子、界面活性剤、親水性ポリマーなどの膨大な数の凝集抑制剤がこれまでに報告されてきたが、ほとんどの凝集抑制剤がタンパク質を変性させ、その機能を阻害してしまう。したがって、目的タンパク質を変性させずにその凝集を抑制するには、膨大な凝集抑制剤の中から最適なものを試行錯誤の末に見つけ、さらに、添加条件も最適化しなければならない。また、既存の凝集抑制剤では無理な場合、新しい専用の凝集抑制剤を開発しなければならない。筆者らは、幅広いタンパク質に対して「テーラーメイド」の人工シャペロン分子を開発するために、系統的に分子構造を多様化させた化合物ライブラリーを合成し、その中から最適なものを選択する戦略で研究を行ってきた<sup>2,3)</sup>。しかし、ヒットが出る確証がない中、新規の分子ライブラリーを合成するのは、少数の研究グループには困難であるのが実情であった。

分子ライブラリーからの選択を通して分かったことが

あった。結局大事なのは、タンパク質表面に露出した疎水性ドメインと凝集抑制剤との相互作用をいかに調節するか、である。相互作用が必要以上に強いと、凝集が抑制できてもタンパク質を変性させてしまい、弱すぎると凝集が抑制できない。絶妙な強さの相互作用を創り出すのに、凝集抑制剤の分子構造を少しずつ変えていくのは大変である。そこで、凝集抑制剤の効果を調節する「調節剤(モジュレーター)」を用意すればよいのではないか、という発想が生まれた。水中での疎水性相互作用を調節するには、有機溶媒を共溶媒として添加するのが常套手段である。そこで、市販の安価な界面活性剤を凝集抑制剤として使い、さまざまな有機溶媒をモジュレーターとして添加して、タンパク質の再生過程における凝集抑制と再生率を調べた。その結果、界面活性剤だけでは再生率が最大で10%程度であったのが、DMSOと一緒に添加するだけで60%近くまで向上した。タンパク質のフォールディング速度と凝集速度とを詳細に調べたところ、DMSOの添加によって、フォールディング速度が大きく向上していた。つまり、界面活性剤によるフォールディング阻害をDMSOが解消し、相乗効果が生まれたことがわかった。このような相乗効果は、さまざまな界面活性剤を凝集抑制剤として用いても確認された。また、モデルとしたリゾチームの再生系においては、DMSOやDMFといった極性有機溶媒が最適であった。

本技術は、化合物を新たに合成せずに安価な市販の試薬を組み合わせるだけで幅広い水溶液環境を創成でき、タンパク質の生産や応用のさまざまな工程において凝集抑制を実現できると期待される。

- 1) Yamaguchi, S. *et al.*: *Biotechnol. J.*, **8**, 17 (2013).
- 2) Yamaguchi, S. *et al.*: *Biotechnol. Prog.*, **24**, 402 (2008).
- 3) Yamamoto, E. *et al.*: *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **164**, 957 (2011).

\* 著者紹介 <sup>1</sup> 東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻 (助教) E-mail: yamaguchi@bio.t.u-tokyo.ac.jp  
<sup>2</sup> 現、株式会社ティーティーシー、<sup>3</sup> 東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻