



TOHOKU
UNIVERSITY

平成 28 年 11 月 16 日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学大学院工学研究科

バイオ工学による天然ゴムの試験管内合成に成功 天然ゴムの安定供給や新たな分子構造の天然ゴムの開発に貢献

【概要】

東北大学大学院工学研究科の高橋征司准教授、山下哲助教（注 1）、中山亨教授（バイオ工学専攻応用生命化学講座）らは、住友ゴム工業株式会社、埼玉大学との共同研究により、天然ゴムの生合成に必要なタンパク質を発見し、それらを再構成する手法を開発しました。これにより、天然ゴムに匹敵する分子量のポリイソプレンを試験管内で合成することに成功しました。この研究成果により、長年にわたり未解明であった天然ゴム生合成メカニズムの全解明や、天然ゴム高生産植物の育種、代替生物でのゴム生産など、多様な分野での貢献が期待されます。

この共同研究の成果は、10 月 28 日付で生命科学・生物医学分野のオープンアクセス誌である eLife に掲載されました。

（注 1）現所属：金沢大学理工研究域物質化学系（准教授）

問い合わせ先

東北大学大学院工学研究科

担当 高橋 征司, 中山 亨

電話 022-795-7272. 022-795-7271

E-mail

takahasi@seika.che.tohoku.ac.jp

nakayama@seika.che.tohoku.ac.jp

【背景】

天然ゴムは、化石燃料から合成される合成ゴムでは再現不可能な優れた物性を有するため、現在においてもタイヤなどのゴム工業製品には必要不可欠な天然ポリマーです。特に、近年のモータリゼーションの加速に伴いタイヤ製造に必要となる天然ゴムの需要が年々伸び続けており、世界の年間需給規模は1200万トンを超えています。現在、産業的に利用される天然ゴムの大半は、熱帯から亜熱帯地域のプランテーションで栽培されるパラゴムノキ⁽¹⁾より採取されるラテックス⁽²⁾より生産されています。ラテックス中では、天然ゴムの分子はリン脂質一重膜で覆われたゴム粒子として存在しています。世界的な需要の上昇に対応するため、パラゴムノキを中心とした植物における天然ゴム生産量の向上が強く求められており、天然ゴム高生産品種の分子育種や代替生物による生産などの方法が提案されてきました。そのためには、まず天然ゴムの生合成メカニズムの解明が不可欠でしたが、分子量 10^6 以上にも及ぶポリマーがどのように酵素で生合成されるかは未解明でした。

天然ゴムの構造は、*cis*-1,4-ポリイソプレン(図1)を主骨格として持つことは知られていましたので、全生物が普遍的に持っている、イソペンテニルニリン酸⁽³⁾の重合酵素「シス型プレニル鎖延長酵素⁽⁴⁾」の一種が天然ゴムの生合成を触媒すると予想されていました。東北大学らの研究グループは、2003年に世界に先駆けパラゴムノキよりシス型プレニル鎖延長酵素 HRT1 を同定しましたが、それらの酵素は単独で天然ゴムを生合成できませんでした。この報告に追随し、様々な植物からシス型プレニル鎖延長酵素が単離されてきましたが、試験管内で天然ゴム生合成活性の実証に成功した例は皆無でした。

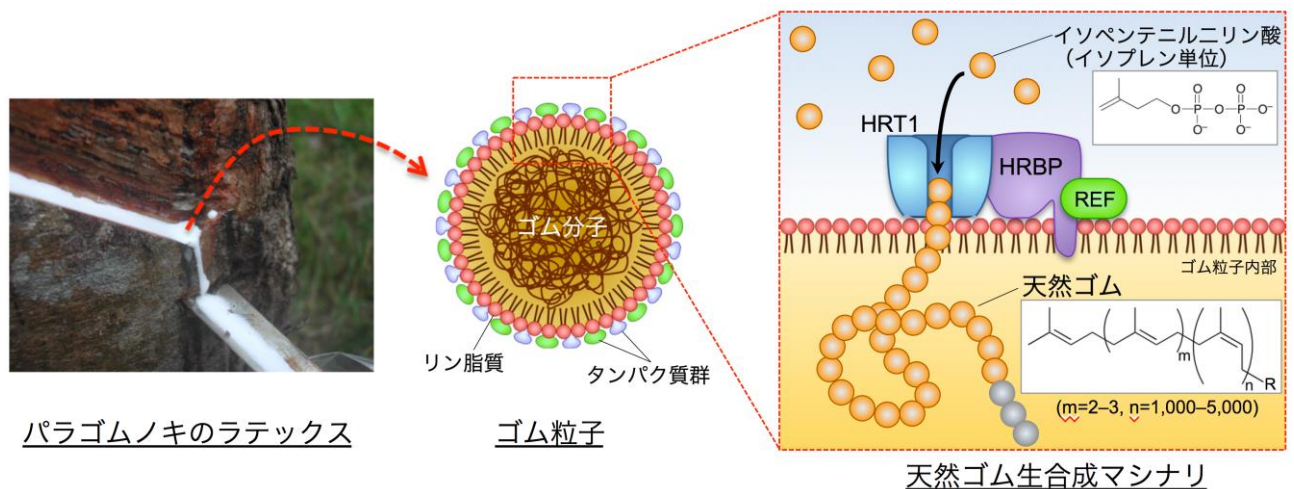


図1 パラゴムノキの天然ゴム生合成マシナリ

【研究成果概要】

研究グループはまず、天然ゴム生合成に関与するタンパク質の候補を探索するため、ゴム粒子に結合しているタンパク質をプロテオミクス⁽⁵⁾で網羅的に解析し、137種のタンパク質を同定しました。そのなかには、HRT1が含まれていたため、やはりHRT1が天然ゴム合成酵素の本体であることが示唆されました。HRT1が活性を持つためには別の調節タンパク質が必要であると予想し、ゴム粒子タンパク質群の中からHRT1と結合するタンパク質を発見しました。この結合タンパク質は、REFと呼ばれるゴム粒子上に最も多く存在する機能未知タンパク質とも結合したため、HRT1-REF bridging protein (HRBP)と名付けられました。

ゴム粒子上でHRT1-HRBP-REFという結合関係にある3つのタンパク質が天然ゴム活性を示すかどうかを解明するため、無細胞タンパク質合成系⁽⁶⁾を利用してこれらのタン

パク質を人工脂質二重膜であるリポソーム⁽⁷⁾に組み込みましたが、全く活性が検出されませんでした。そこで研究グループは、界面活性剤処理でタンパク質を可能な限り除去したゴム粒子上に、無細胞タンパク質合成系を利用して外来タンパク質を導入する手法を新たに開発しました。驚いたことに、この手法で導入されたHRT1は明確な活性を示し、試験管内で天然ゴムに相当する高分子量(10⁶以上)のポリイソプレンを合成しました。さらに、HRBPとREFをHRT1と共にゴム粒子上に導入したところ、HRT1の活性が顕著に安定化されました。これらの結果から、HRT1が天然ゴム生合成活性を発現するためには、ゴム粒子という特殊な細胞内小器官の膜上に正しく組み込まれることが重要であることが明らかになりました。また、ゴム粒子の膜上に多く存在するREFの一部と結合することでHRT1-HRBPがゴム粒子の膜上に安定化され、それによりHRT1の重合反応で伸長する疎水性ポリイソプレン鎖が効果的にゴム粒子内に収容されていくという生合成機構が想定されました(図1)。これらの結果より研究グループは、複数のタンパク質で構成される天然ゴム生合成マシナリの存在を提唱し、HRT1-HRBP-REF複合体がその中核となって機能しているモデルを提案しました。

【本成果の意義と展望】

本研究では、これまで成し得なかった、再構成された酵素による試験管内天然ゴム合成に成功し、長年にわたり未解明であった天然ゴム生合成機構の一端を解明しました。ここで開発された実験手法は、生合成酵素の反応触媒機構の分子レベルでの解明につながる重要な基盤技術となります。また、天然ゴム生合成に重要な3つのタンパク質が解明されたことで、それらのタンパク質を指標とした天然ゴム高生産型植物の分子育種が可能となるとともに、遺伝子組換え技術を利用することで、代替植物における天然ゴム生産の可能性も開けました。大気中の二酸化炭素を固定し有機化合物を生産する植物において、産業的に重要な高分子材料である天然ゴムを高生産させることで、地球温暖化問題、エネルギー問題の解決にも大きく貢献できます。

【原著論文情報】

S. Yamashita, H. Yamaguchi, T. Waki, Y. Aoki, M. Mizuno, F. Yanbe, T. Ishii, A. Funaki, Y. Tozawa, Y. Miyagi-Inoue, K. Fushihara, T. Nakayama, S. Takahashi, Identification and reconstitution of the rubber biosynthetic machinery on rubber particles from *Hevea brasiliensis*. *eLife* **5**, e19022 (2016).

DOI: <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.19022>

【用語解説】

(1) パラゴムノキ

学名 *Hevea brasiliensis*. アマゾン川流域を原産とするトウダイグサ科の樹木です。現在は、天然ゴム生産のために主に東南アジア、南アジアのプランテーションで大規模栽培されています。

(2) ラテックス

乳管と呼ばれる植物の師部組織で特殊に分化した管状細胞の細胞質成分の総称です。乳管細胞は生体防御に関わる様々な二次代謝産物を蓄積する場であり、植物種によって蓄積している物質は様々です。そのため、天然ゴムを含まないラテックスも存在します。

(3) イソプレン単位 (イソペンテニルニリン酸)

炭素数5の有機化合物であり、イソペンテニルニリン酸またはそれが1,4-重

合した化合物を基本骨格とした天然有機化合物はイソプレノイドと総称されます。従い、天然ゴムもイソプレノイドの一種です。

(4) シス型プレニル鎖延長酵素

イソペンテニルニリン酸の 1,4-重合反応を触媒する酵素ファミリーで、その酵素反応で生じたポリマーのイソプレン単位に含まれる二重結合がシス型となります。一方で、トランス型の二重結合を持つポリイソプレンを生成する酵素は、シス型プレニル鎖延長酵素と呼ばれます。

(5) プロテオミクス解析

ゲノム科学の進展に合わせ、生体内のタンパク質の機能と構造を系統的・包括的に研究する解析のことです。

(6) 無細胞タンパク質合成系

組換え型タンパク質を得るためには、通常は増殖の早い微生物などに遺伝子を導入した形質転換体を作製し、その細胞内で発現したタンパク質を回収します。しかし、細胞から翻訳に関わる酵素の複合体などを分離して、転写産物と混合することで、試験管内でもタンパク質を合成することができます。コムギ胚芽、大腸菌、ウサギ網状赤血球、昆虫細胞などに由来する抽出物を利用したタンパク質合成系が開発されています。

(7) リポソーム

リン脂質二重層で形成される人工膜で囲われた小胞のことです。細胞膜を模した構造で、膜の内側と外側は水的環境です。これに対し、ゴム粒子はリン脂質一重膜で覆われたゴム粒子ですので、膜の内側は疎水的環境になります。