

29amC-147

7回膜貫通型受容体の大腸菌における発現の改善

○奈良 敏文¹, 田母神 淳¹, 加茂 直樹²(¹松山大薬, ²北大院生命科学)

[背景] 微生物型ロドプシンの大腸菌 BL21 (DE3) 株での大量発現は、1997 年に高度好塩好アルカリ性菌 *Natronomonas pharaonis* の走光性受容体 $NpSRII$ (pPR) の成功が下野ら⁽¹⁾により報告されて以来、世界中のラボで採用されて来た。しかし、同方法では実験可能なレベルに発現しないレチナールタンパク質もまだまだ存在する。一方、これと類似するヒト GPCR は創薬のターゲットとなるも、大腸菌での大量発現は容易とは言えず、N 末に MBP (maltose binding protein) を、C 末に Trx (thioredoxin) を付加する融合タンパク質として限られた GPCR の発現が報告されている。十分な構造・機能解析の為には、更なる発現系の検討が必要である。今回、Trx との共発現で 7 回膜貫通型受容体の発現量がどのように改善されるかを調べた。

[結果および考察] 7 回膜貫通型受容体の発現モデルとして、 $NpSRII$ を用いた。Trx の共発現には、pT-Trx (Cm^R)⁽²⁾ を用いた。これら発現ベクターを持つ BL21 (DE3) 株を OD₆₆₀=0.4 まで生育し (LB 培地、37°C)、1 mM IPTG で発現誘導した。 $NpSRII$ はこれまで発現量の検討が十分にされて来たが、興味深いことに Trx との共発現で、発現量が 1.5~2 倍程度増加することが分かった。同様の効果は、M9 最小培地を用いた場合でも見られた。

本方法は、7 回膜貫通型受容体の発現量を増す簡便な方法の一つとなる可能性がある。最小培地でも効果が見られた事により、標識タンパク質の調整等にも有効な方法と考えられる。現在、他のタンパク質でも検討を進めている。

(1) Shimono, *et al.* (1997) *FEBS Lett.* **420**:54-56.

(2) Yasukawa, *et al.* (1995) *J. Biol. Chem.* **270**:25382-25331.