

原子・分子の自在配列・配向技術と分子システム機能
2020 年度採択研究代表者

2020 年度 年次報告書

廣田 俊

奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科
教授

3Dドメインスワッピングを利用したタンパク質の自在配列と機能化

§ 1. 研究成果の概要

ミオグロビン(Mb)の精密設計を行い、3D ドメインスワッピング(3D-DS)した 2 量体に金属結合部位を導入した。Mb の単量体と 2 量体のヒンジ領域内の His 残基の位置を移動させるとともに、ヒンジ領域に Ala 残基を導入した 2 種類の Mb 変異体 K78H/G80A/H82A Mb および K79H/80A/H81A Mb を作製し、それぞれの変異体を 3D-DS させることにより、金属結合部位を有する 2 種類の Mb 2 量体を得た。各 Mb 2 量体において、位置を移動させた His を含む金属結合部位に金属イオンが結合した。Co²⁺および Ni²⁺結合 K78H/G80A/H82A Mb は分子表面に八面体構造の金属結合部位 2 つが隣接し、His78、His81、Glu85 および 3 つの H₂O/OH⁻分子が金属イオンに配位していた。一方、Co²⁺結合および Zn²⁺結合 K79H/G80A/H81A Mb は分子内部に四面体構造の金属結合部位 2 つが隣接し、His79、His82、Asp141 および 1 つの H₂O/OH⁻分子が金属イオンに配位していた。Co²⁺結合部位は K79H/G80A/H81A Mb 2 量体の分子内部に存在していたため、Co²⁺イオンが四面体配位構造を形成したと考えられる。これらの結果は、3D-DS を利用して人工金属タンパク質を構築できることを示している。

3D-DS を利用した機能性分子開発を目指し、酵素活性を有する抗体軽鎖(スーパー抗体酵素)において、単量体と 4 量体間で平衡が成立するものが見出された。この抗体軽鎖において重鎖の Cys 残基とジスルフィド結合を形成する Cys 残基を Ala に置換させた抗体軽鎖も単量体と 4 量体間で平衡が成立した。Ala を導入した抗体軽鎖は温度を上げると 4 量体から単量体への標準エンタルピー変化が増大したことより、疎水的相互作用により 4 量体を形成することが示唆された。

§ 2. 研究実施体制

(1) 廣田グループ(奈良先端科学技術大学院大学)

- ① 研究代表者: 廣田 俊 (奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・多様なタンパク質の 3D-DS 構造と機能の解明
 - ・タンパク質の 3D-DS 制御とスーパー抗体酵素の構造制御

(2) 重田グループ(筑波大学)

- ① 主たる共同研究者: 重田 育照 (筑波大学計算科学研究センター、教授)
- ② 研究項目
 - ・分子動力学計算に基づく 3D-DS の構造安定性・形成過程解析手法の開発

(3) 一二三グループ(大分大学)

- ① 主たる共同研究者: 一二三 恵美 (大分大学全学研究推進機構、教授)
- ② 研究項目
 - ・スーパー抗体酵素の高機能化に向けた 3D-DS 手法の開発と革新的医薬品の創製

§ 3. 研究実施内容

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Rational Design of Metal-Binding Sites in Domain-Swapped Myoglobin Dimers”, S. Nagao, A. Idomoto, N. Shibata, Y. Higuchi, S. Hirota, *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 217, 111374, 2021.