

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

2021 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

ウマミオグロビン(Mb)は、3Dドメインスワッピング(3D-DS)によりヒンジ領域がループ構造から α ヘリックス構造へと変わり、2量体を形成する。Mbのヒンジ領域のGly80とHis81をヘリックス形成能が高いAlaに変異させたK₃A₂H変異体、2量体のヒンジ領域の水素結合ネットワークの近くにあるLeu137を親水性アミノ酸(GluまたはAsp)に変異させたK₃A₂H-L137E変異体とK₃A₂H-L137D変異体を作製した。野生型Mbの2量体は70°Cで30分間加熱すると全て単量体に解離するが、作製した変異体では単量体と2量体の平衡状態を形成した。K₃A₂H-L137E変異体の2量化とK₃A₂H-L137D変異体の2量化はエンタルピー的に非常に有利だが、エントロピー的に非常に不利だった。K₃A₂H-L137E変異体では導入したGlu137が水分子を介して水素結合ネットワークをTrp7まで拡張し、K₃A₂H-L137D変異体では導入したAsp137がLys79と新しい水素結合を形成して、それぞれの2量体構造を安定化した¹⁾。2量体で強固な水素結合ネットワークを持つMb変異体ほど、ヒンジ領域の水素結合数が増加し、ヒンジ領域の α ヘリックス構造が安定化することを分子動力学シミュレーションにより確認した¹⁾。これらの結果は、3D-DSにおける水素結合の重要性を示している。

フェリチンを用いて、金属イオンを吸着/脱着するハイドロゲルを作製した²⁾。得られたハイドロゲルは、乾燥・再膨潤が可能であり、塩酸、2-メルカプトエタノール、メタノールに対して高い安定性を示した。ハイドロゲルのヤング率は 20.4 ± 12.1 kPaであり、比較的硬いことが分かった。ハイドロゲルにはFe³⁺、Co²⁺、Cu²⁺イオンが吸着し、金属イオンが吸着したゲルをエチレンジアミン四酢酸溶液に浸すと金属イオンが放出された。

§ 2. 研究実施体制

(1) 廣田グループ

- 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
 - ・3Dドメインスワッピングの機構解明とタンパク質機能化

(2) 重田グループ

- 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

- ① 主たる共同研究者: 一二三 恵美 (大分大学研究マネジメント機構 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ドメインスワッピング手法の開発と革新的医薬品の創製

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Experimental and Theoretical Study on Converting Myoglobin into a Stable Domain-Swapped Dimer by Utilizing a Tight Hydrogen Bond Network at the Hinge Region”, RSC Advances, vol. 11, No. 5, pp.37604-37611, 2021.
- 2) “Construction of Ferritin Hydrogels Utilizing Subunit-Subunit Interactions”, PLOS ONE, vol. 16, No. 11, e0259052, 2021.
- 3) “A Free Energy Landscape Analysis of Calmodulin Obtained from an NMR-Data Utilized Multi-Scale Divide-and-Conquer Molecular Dynamics Simulation”, Life, vol. 11, No. 11, 1241, 2021.