

原子・分子の自在配列と特性・機能  
2022 年度採択研究代表者

2022 年度  
年次報告書

岡本 泰典

東北大学 学際科学フロンティア研究所  
助教

金属イオンのタンパク質内精密多点配置による機能創出

## 研究成果の概要

本研究では、タンパク質内部で金属イオンを多点配置する戦略を確立し、人工多核金属酵素の開発をめざしている。2022年10月から2023年3月までの初年度は人工多核金属酵素のテンプレートとなるタンパク質の調製方法の確立に取り組んだ。まず、テンプレートとなるタンパク質の合成遺伝子を設計し、発現プラスミドを構築した。続いて、大腸菌でのテンプレートタンパク質の発現を試みた。宿主となる大腸菌としては、市販されているものを複数種類選び、培養温度と時間、培地の種類について検討した。この中から最も効率良く可溶性画分に目的タンパク質を発現可能な条件を見出した。続いて、既報を参考にして目的タンパク質の精製を試みた。既報では陽イオンおよび陰イオン交換クロマトグラフィーとサイズ排除クロマトグラフィーによって目的タンパク質の精製に成功していた。しかしながら、同様の手法を用いても核酸のコンタミネーションや収量の大幅な低下が見られた。そこで、精製方法について一から再検討した結果、培養液1Lあたりから150mg以上の目的タンパク質の単離に成功した。続いて、金属イオンの結合サイトを構築するため、配位性アミノ酸をテンプレートタンパク質に変異導入した。作製した3つの変異体は野生型と同様の手順で発現・精製することが可能であった。これら全ての結晶化および構造解析に成功したことを受け、各種金属イオンの存在下で結晶化を試みた。構造解析の結果、変異体と各種金属イオンのいくつかの組み合わせにおいて、多核金属構造が確認された。

これらの結果を受け、2023年度は金属イオンの結合が確認された変異体の機能について多角的に検証する。また、現時点では結合が確認できていない他の金属イオン種についても、置換変異の位置と種類を変え、多核金属中心の形成を引き続き試みる。