



好塩性タンパク質におけるCs⁺選択性結合部位の発見

日本原子力研究開発機構 新井栄揮

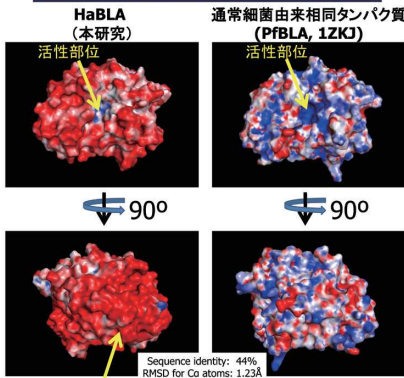
概要

タンパク質は緻密な原子・分子認識機構を有し、金属イオンのわずかなイオン半径の違い(Na⁺ ~1.14 Å, K⁺ ~1.52 Å, Mg²⁺ ~0.86 Å, Ca²⁺ ~1.14 Åなど)も識別できる。また、好塩菌が産生する好塩性タンパク質は、多くの酸性アミノ酸を含有するため(表1)、分子表面に多くの負電荷を有し、数多くの金属イオンと相互作用する可能性がある。我々は、タンパク質が有するこれらの性質に着目し、タンパク質を利用した希少金属・有害金属捕集材料の研究開発を進めている。その一環として、異常分散X線回折測定により、好塩菌 *Chromohalobacter* sp.560由来β-lactamase (HaBLA)の結晶構造中におけるCs⁺、Sr²⁺結合部位の抽出を試みた。Cs⁺の同定にはCs吸収端(λ=2.175Å)近傍のX線を利用できるSAGA-LSのBL7、Sr²⁺の同定にはSr吸収端(λ=0.770Å)近傍のX線を利用できるSPRING-8のBL38B1およびPFのNW12Aを使用した。本測定の結果、HaBLA分子上に少なくとも1ヶ所のCs⁺結合部位、3ヶ所のSr²⁺結合部位を発見した。特に、今回発見したCs⁺結合部位は、Na⁺がCs⁺の9倍量存在する条件下(Na⁺/Cs⁺ = 90mM/10mM)でもCs⁺を選択的に結合できることが明らかになった。

表1. 通常細菌由来及び好塩性細菌由来タンパク質におけるアミノ酸組成の比較

局在場所	タンパク質	酸性/塩基性アミノ酸残基数の比 (Glu+Asp) / (Lys+Arg)	
		通常細菌由来	好塩性細菌由来
細胞質	ヌクレオシドリン酸キナーゼ	AfNDK	HaNDK
		1.32	1.64
ペリプラズム	β-ラクタマーゼ	SmBLA	HaBLA
		0.80	2.04
	アルカリフォスファターゼ	EcAP	HaAP
		1.24	2.76

図3. HaBLAと通常細菌由来相同タンパク質の比較



3種類の好塩性タンパク質の結晶化～X線結晶解析に成功

二価・三価の金属イオンを好塩性タンパク質分子間の架橋剤として利用することで、効果的に結晶化させることに成功した(図1)。これにより、金属捕集バイオ材料創製に必要な好塩性タンパク質の立体構造情報の取得が可能になった(図2)。

図1. 結晶内のタンパク質分子会合面に位置する多価金属イオンの例

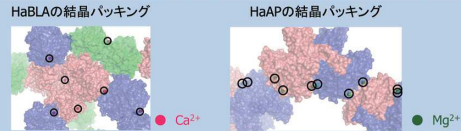
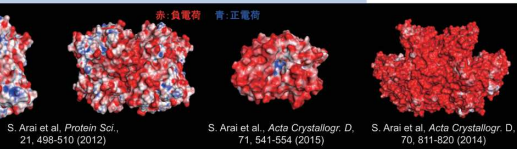
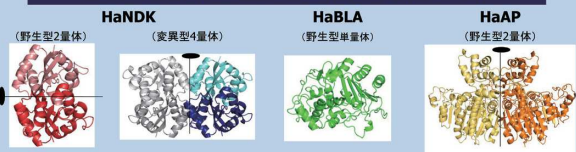


図2. 原子力機構でX線結晶解析に成功した好塩性タンパク質



HaBLA分子上にCs⁺選択的結合部位を発見

天然の好塩性タンパク質分子にCs⁺選択性の高い金属イオン結合部位が存在することが明らかになった。

図4. HaBLAの全体構造

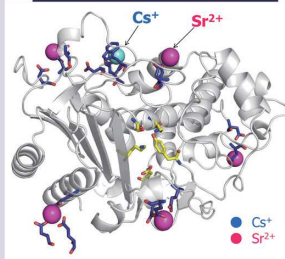
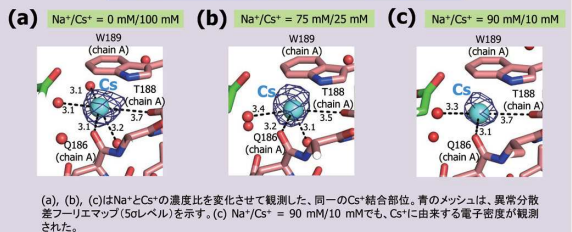
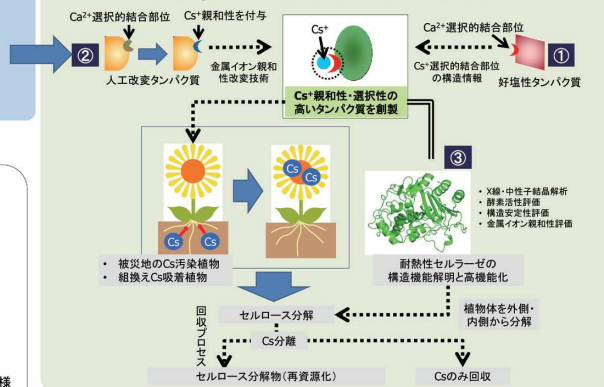


図5. HaBLAのCs⁺結合部位(Cs⁺選択性評価)



本研究成果の応用と展開

- ①本研究で得られたCs⁺結合部位の構造学的知見、および、②タンパク質の金属イオン親和性を改変する技術を利用することで、Cs⁺親和性・選択性の高いタンパク質を創製できる。また、そのタンパク質を植物の特定の部位(花弁・種子等)に発現させれば、Cs⁺の濃縮/回収が容易化される。
- ③更に、③酵素活性を向上させた耐熱性セルラーゼも開発中。同セルラーゼを利用すれば汚染物質を含む植物体を効果的に加水分解・液状化し、植物を焼却せず液体のまま減容することが可能になる。また、セルラーゼにCs⁺結合能を付与して、上記A)のように利用すれば、Cs⁺回収率が向上する。



謝辞・連携組織

- 日本原子力研究開発機構
 - 分子構造ダイナミクス研究グループ
 - 分子機能解析基盤技術研究グループ
 - 分子シミュレーション研究グループ
 - 副ディレクション長 黒木 良太
 - リーダー 玉田 太郎
 - サブリーダー 安達 基泰
 - 研究者 米澤 博
 - 清水 瑞美
 - 河野 秀俊
 - 桜庭 俊
- 鹿児島大学農学部 徳永 正雄 教授
 - 徳永 廣子 博士
 - 石橋 松二郎 准教授
- フロリダ州立大学 Prof. Michael Blaber
 - 産総研産業技術総合研究所 中国センター
 - 石川県立大学 生物資源工学研究所
 - SAGA-LS, Photon Factory, SPRING-8のスタッフの皆様