

(様式 1-2)

提出日：2021 年 4 月 11 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	金属イオン結合に伴い構造変化する蛋白質の構造および熱力学的解析		
研究代表者	氏名	織田 昌幸	
	所属機関名・部局名	京都府立大学・大学院生命環境科学研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川 敦史		
<p>二価金属イオンが特定部位にある His に配位結合し、コア領域を形成することでヘリックスバンドル構造をとるようにデザインした人工蛋白質 HA、HV、HI、HL について、ITC を用いて、Zn²⁺との結合解析を行った。その結果、エンタルピー変化量およびエントロピー変化量の絶対値は、HI > HV > HL > HA の順となり、CD 解析の結果として Zn²⁺結合による構造変化が最も大きい HI でエントロピー損失が最大であるなど、構造変化を反映する結果が得られた。</p> <p><i>Saccharomonospora viridis</i> 由来のクチナーゼ Cut190 の高機能化変異体、S226P/R228S (Cut190*) と Q138A/D250C-E296C/Q123H/N202H/S226P/R228S (Cut190*SS) について、Ca²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺との結合解析を、ITC を用いて行った。Cut190*では、既報の Cut190*S176A 同様に、Ca²⁺では結合熱が観測されず、結合比が Mn²⁺で 1、Zn²⁺で 3 となり、結合力は Ca²⁺ < Mn²⁺ < Zn²⁺であった。3D-RISM 計算の結果、Cut190 上の複数の金属イオン結合部位のうち、Site 2 への金属イオン結合が最も強いと予想されることから、Mn²⁺では同部位への結合熱が観測されたものと考えられる。一方、Cut190*SS では、Ca²⁺、Mn²⁺、Zn²⁺、いずれの結合熱も観測されなかった。同変異体では、Site 2 近傍に、D250C-E296C 変異によるジスルフィド結合が導入されたことから、Site 2 を含む各部位への金属イオン結合力が変化したものと考えられる。ただし Cut190*SS でも、Cut190*同様に、Ca²⁺存在下で活性化されることから、弱い金属イオン結合が、同酵素の機能発現に重要であることが示唆された。</p>			