

金属イオンを接着剤として作られるタンパク質中空粒子

中島 一紀

タンパク質はリボソーム上でポリペプチド鎖として合成された後、2次構造、3次構造などの高次構造を形成することによってはじめて機能を発現する。さらに、複数のポリペプチド鎖(サブユニット)が非共有結合によってオリゴマーや超分子複合体などの会合体を形成することで高度な機能を示すものもある。本稿では、外部刺激(金属イオン)を駆動力として特異的な会合体を形成するタンパク質とその応用について紹介する。

フェリチンは動植物からバクテリアまで幅広い生物に存在する鉄貯蔵タンパク質であり、生体内において反応性の高いFe(II)イオンは不活性なFe(III)イオンに変換され、最大4500個までフェリチンタンパク質の空洞内に取り込まれる。構造に着目すると、フェリチンは24個の単量体が自己集合することで内径8 nm、外径12 nmの極めて精密で対称性の高い中空タンパク質殻を形成している。通常、フェリチンは単量体が会合した状態で存在するため、その自己組織化をコントロールするのは難しい。つまり、外部刺激に応答して構造体形成を促進するためには何らかの仕掛けを組み込む必要がある。フェリチンの一つの単量体は4本のヘリックスで構成され、ヘリックスのアミノ酸側鎖同士が疎水結合や水素結合によって相互作用することにより高次構造体を形成している。Dustinらは、フェリチンが自己組織化する際の接着部分となるタンパク質界面部分に細工を施した²⁾。具体的には、サブユニット同士の接着部分に金属配位性のヒスチジン残基(His)を計4つ導入し、さらに疎水結合や水素結合によって会合体形成に関与していると考えられるチロシンやアスパラギンをグルタミン酸に置換した変異体MIC1を作製した。HisはCu(II)イオンと平面四配位構造により錯体を形成する。単量体あたり2つのHisが導入されているため、それぞれの単量体中のHisがCu(II)イオンと平面四配位により架橋することで単量体どうしの会合が起こると考えられる。また、導入したグルタミン酸残基の負電荷の反発によってヘリックス同士の強固な結合が抑制されると考えられる。つまり、“金属イオンによる会合体形成能”と“適度な不安定性”を付与することで、金属イオンを添加したときのみ会合体を形成するバイオ分子を作製した。その結果、作製したMIC1はCu(II)イオン非添加では単量体として存在し、Cu(II)イオン添加では24量体を

形成することが分かった。透過型電子顕微鏡(TEM)観察においてもネイティブなフェリチンと同様の中空粒子を形成している様子が観察された。また、その他の遷移金属イオンとしてZn(II)イオン(正四面体四配位)やNi(II)イオン(正八面体六配位)を添加した系では構造体の形成は見られなかったことから、MIC1は4つのHisとCu(II)イオンの厳密な選択性に基づいて構造が形成されていることが示された。注目すべき点は、Cu(II)イオンによって24量体が形成された後に錯化剤EDTAによってCu(II)イオンを除去しても構造体は分解せず、会合状態を保つということである。つまり、Cu(II)イオンはタンパク質を配列させるための“一時的な接着剤”であり、いったん熱力学的に安定な中空タンパク質粒子が形成されれば、その後Cu(II)イオンを除去しても構造体は安定に存在する。さらに、単量体の適切なアミノ酸残基を選択することで、中空タンパク質粒子の内部にのみ化学的修飾(たとえば、システイン残基への蛍光分子修飾)を施すことも可能である。

フェリチンは非常に単分散なタンパク質ナノ粒子であり、Feイオン以外にもさまざまな金属イオンを取りこむことができるため、フェリチンの殻を利用した金属ナノ粒子の合成³⁾(バイオミネラリゼーション)やフェリチン中空粒子内に担持した金属錯体触媒によるポリマー合成⁴⁾などへの応用が可能である。したがって、フェリチンをナノサイズの反応容器として利用する際には、本稿で紹介したような(i)特定の物質によって構造体(反応容器)の形成を制御でき、(ii)構造体内部の修飾が可能である、という特性は非常に魅力的である。

この他にも、本来会合能力をもたないタンパク質でも同様の金属配位子を導入することで金属イオンを駆動力とした構造体形成が可能であり⁵⁾、本稿で紹介した新たなタンパク質デザインは、高機能性タンパク質の創製やドラッグデリバリーシステムへの応用展開が期待される。

- 1) Lawson, D. M. *et al.*: *Nature*, **349**, 541 (1991).
- 2) Huard, D. J. E. *et al.*: *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 169 (2013).
- 3) Kasyutich, O. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 3621 (2010).
- 4) Abe, S. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 6958 (2009).
- 5) Salgado, E. N. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 1827 (2010).