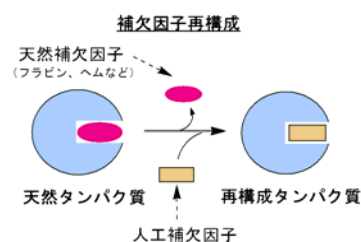


ディビジョン番号	8
ディビジョン名	生体機能関連化学・バイオテクノロジー

大項目	1. 生体機能関連化学
中項目	1-3. タンパク質化学・タンパク質工学
小項目	1-3-9. 補欠因子再構成

概要（200字以内）

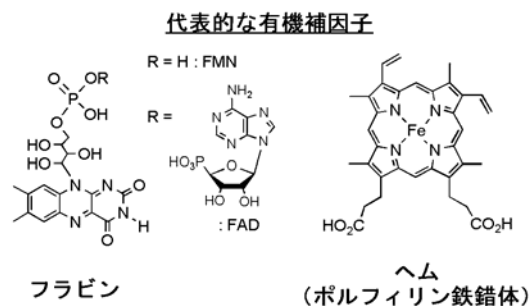
生体内のタンパク質には、ペプチド鎖によって構成されるマトリクス部分にヘム、フラビンなどの有機小分子を補欠因子（補欠分子）として保持するものが存在する。このようなタンパク質の研究においては、アミノ酸残基を部位特異的に変換する遺伝子学的手法と並んで、天然補欠因子を分子設計に基づいて合成された「人工補欠因子」と置換して



タンパク質を再構成する「補欠因子再構成」が重要な研究手法として広く利用されている。

現状と最前線

フラビンやヘムなどの有機小分子を補欠因子（補欠因子）として含むタンパク質の研究においては、遺伝子学的方法によるアミノ酸残基の部位特異的変換のみならず、活性発現の場である補欠因子部分を実験対象とする方法が重要となる。これには、補欠因子を含まないタンパク質（アポタンパク質）を大腸菌により発現させ、本来の補欠因子を添加する場合

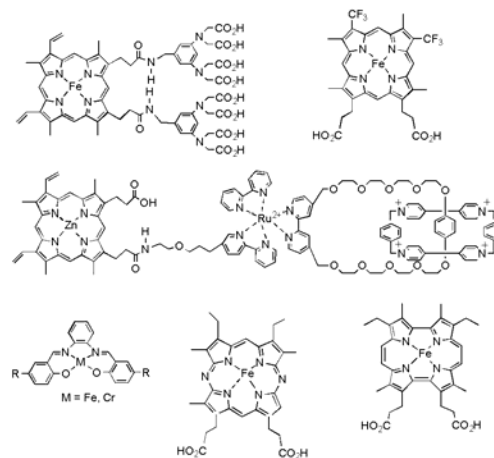


と、補欠因子が結合した形で得られたタンパク質（ホロタンパク質）から補欠因子を除去し、有機合成等で得られた「人工補欠因子」と置換し、ホロタンパク質を再構成する場合が含まれる。前者は、補欠因子の結合が比較的弱く、補欠因子の結合に伴うタンパク質の構造変化および機能発現の機構を検討する際に採用される方法であり、フラビン補欠因子など、水素結合のみを介してアミノ酸残基に結合しているタンパク質において行われることが多いが、後に述べるような人工補欠因子を用いる研究例は少ない。一方、後者の方法は、ヘムなどの金属錯体を補欠因子とするタンパク質に対して行われ、タンパク質の機能解明から変換まで幅広い研究内容が報告されている。

特に、ヘム（ポルフィリン鉄錯体）を補欠因子とするヘムタンパク質においては、構造および電子状態を考慮した分子デザインに基づく様々な人工補欠因子（化学修飾ヘム）が有機合成によって得られ、ミオグロビン、西洋ワサビペルオキシダーゼ、シトクロム P450 などのヘムタンパク質に導入されている。この化学修飾ヘムとしては、(i)ヘムプロピオン酸末端に機能

性部位を導入した分子、(ii)ヘムプロピオン酸末端を欠損させた分子、(iii)ポルフィリン骨格に修飾を加えた分子の3種類が挙げられる。(i)については、タンパク質や小分子が結合するサイトや電子伝達部位を導入したものがあり、タンパク質複合体の反応モデル構築およびその反応解析や、酸素貯蔵タンパク質であるミオグロビンや、ペルオキシダーゼやシトクロム P450のような酸化酵素へ機能変換させた例がある。更に、より生体系に近い複合体形成を目指してペプチドや糖分子を導入したものも報告されている。(ii)は、アミノ残基と水素結合しているヘムプロピオン酸を欠損させた分子であり、ヘムタンパク質の構造・機能におけるヘムプロピオン酸とアミノ酸残基の相互作用の役割について、アミノ酸変異体を用いた研究と相補的な情報を提供するものとして重要である。(iii)は、タンパク質の機能発現の中心であるポルフィリン骨格の電子状態に直接摂動を加えたものであり、劇的な機能向上・変換が期待される。ポルフィリン骨格の側鎖にホルミル基、トリフルオロメチル基、フッ素原子を付与した分子が合成され、ミオグロビンに導入され酸素親和性が検討されている。また、ポルフィセン、アザポルフィリン、コルフィセンなどのポルフィリン構造異性体も人工補欠因子として用いられ、天然タンパク質を凌駕する機能をもつ再構成タンパク質が報告されている。これら金属錯体の電子状態とタンパク質の活性との相関関係が詳細に議論され、錯体化学的な見地からも注目を浴びている。更に、サレン錯体などの非テトラピロール系金属錯体のアポタンパク質への導入も試みられており、ユニークな金属タンパク質の創製という観点から興味を持たれている。

代表的な人工ヘム



変異体タンパク質に人工補欠因子を組み合わせ、遺伝子学的手法によるペプチド鎖部分の反応場制御と、有機合成による人工補欠因子の反応性を活かした「ハイブリッド再構成タンパク質」の創製も行われつつある。

将来予測と方向性

- ・ 5年後までに解決・実現が望まれる課題
 - (1) 綿密な人工補欠因子デザインのための量子化学計算などによる活性予測方法の確立
 - (2) タンパク質マトリクスを活性化させたユニークな反応システムの開発
- ・ 10年後までに解決・実現が望まれる課題
 - (1) 医学・薬学的用途など実用化を指向した再構成タンパク質の利用方法の探索

キーワード

人工補欠因子・再構成・機能改変・機能変換・ヘム

(執筆: 林 高 史)