

超巨大蛋白質会合体ヘモシアニンの X 線結晶構造解析

Structure, 23, 2204-2212 (2015)

J. Struct. Biol., 190, 379-382 (2015)

世の中には青い血の生き物が存在する。イカやタコ、貝などの軟体動物である。これらの生物はヘモシアニンという銅含有蛋白質を用いて酸素を運搬するため、その血は青いのである。ヘモシアニンは青いだけでなく、分子量が非常に大きいという特徴がある。イカのヘモシアニンは、約 50kDa の機能ドメインが 8 個連結した約 400kDa

のポリペプチドが 10 個会合した巨大蛋白質会合体であり、その分子量は 3.8MDa に及ぶ。興味深いことに、ヘモシアニンはその大きさを利用し、ハプテンのキャリア蛋白質やワクチン投与の際の免疫活性化剤として用いられている。このように医工学的に応用される一方で、その分子レベルでの解析は驚くほど進んでいない。これは、その大きさと解離しやすい性質から、これまでのヘモシアニンの構造学的研究は電子顕微鏡による低分解能の解析が中心であったためである。本研究では、X 線結晶構造解析により、3.8MDa のスルメイカ由来ヘモシアニンの全体構造を 3.0Å の分解能で決定した。

我々はまず、北海道近海で得られるスルメイカ、ヤリイカ、ミズダコのヘモシアニンを用いて結晶化スクリーニングを行った。その結果、スルメイカヘモシアニンでのみ結晶を得る事ができた。糖鎖修飾を調べたところ、スルメイカヘモシアニンでは全糖鎖の 90% 以上が 2 種類の糖鎖だけで占められ

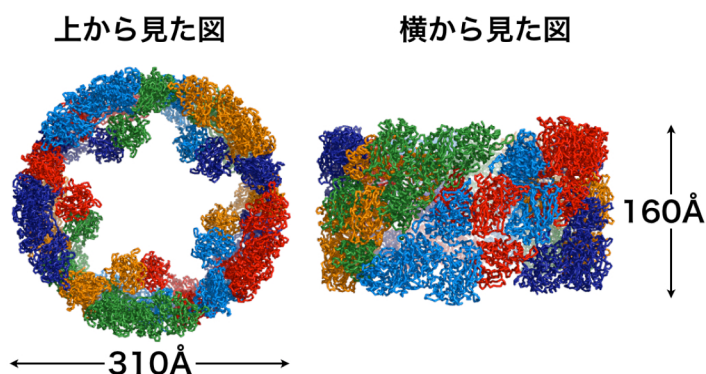


図 1：スルメイカ由来ヘモシアニンの全体構造。3.8MDa にもおよぶ超巨大分子の原子座標を決定する事に成功した。

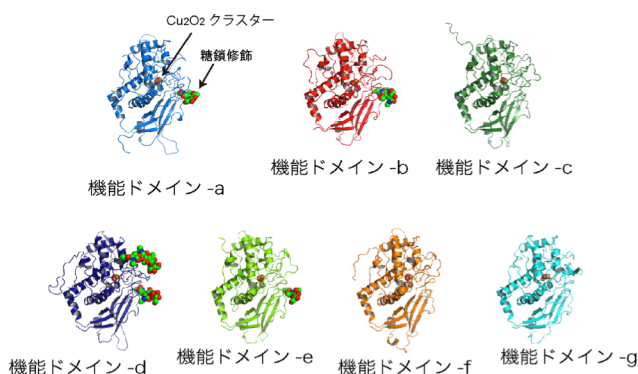


図 2：サブユニットを構成する機能ドメインの構造

ていたのに対し、他のものでは、様々な糖鎖が混在していたことから、スルメイカでのみ結晶が得られたのは、糖鎖修飾の均一性が高かったためと考えている。次に、我々は良質な結晶の作製に向け、精製条件を検討した。驚いた事に、生け捕りにしたスルメイカから採取した血リンパを、精製せずに用いる事で最も良い結晶を得る事ができた。更に、個体により結晶の質が大きく異なる事が判明し、2014 年 11 月に採取した 1 つの個体からのみ良質な結晶を得ることができた。

このような試行錯誤を経て、最終的に 28,470 残基、80 の Cu_2O_2 クラスター、50 個の糖鎖修飾により構成される、10 量体のヘモシアニンの全体構造を決定した（図 1）。明らかになった構造は、直径約 310Å、高さ約 160Å の円筒状の巨大分子であった。本研究により決定された原子構造により、80 個の類似した機能ドメインがメガダルトンオーダーの超巨大分子へと階層的に会合する機構や、糖鎖修飾のサブユニット会合やアロステリック効果への関与、分子進化の過程が明らかになった（図 2）。