

Lanmodulin：希土類金属イオンを 選択的に結合するタンパク質



半田 友衣子

1 はじめに

希土類元素（レアアース，REE）は，ランタノイド系列の元素とイットリウム，スカンジウムをあわせた17元素の総称であり，軽希土類，中希土類，重希土類と大別されることもある。REEは他の元素にはない電子的性質を有し，幅広いテクノロジーにおいて極めて重要である。レアアースという名から，地殻中での存在度が低い希少金属元素と思われるかもしれないが，17種類のうち，軽希土類であるCeやLaの地殻存在度はベースメタルと同程度である。一方で，重希土類は存在度が低く，産業界において資源確保が課題である。さらに，化学的性質が類似するREEを高効率に検出し，分離・回収することは，その資源を有効に利用する上で重要な課題となっている。2010年のレアアースショックを機に，REEの分離と検出に関する研究数は増加し続けており，特にREEの分離は，“Seven chemical separations to change the world”の一つに挙げられている¹⁾。

2 希土類金属イオン（RE³⁺）を利用する生体分子の発見

地殻中での存在度がベースメタルと同程度である軽希土類金属は，自然界に生息する生物にとって主要金属となり得る，という見方もでき，生物が希土類金属イオン（RE³⁺）を積極的に利用している可能性が指摘されてきた²⁾。2011年にメチル栄養細菌が軽希土類金属であるLa³⁺，Ce³⁺，Pr³⁺，Nd³⁺を取り込むことが発見され³⁾，2012年には，メタノールを唯一の炭素源として生育できるMethylobacterium属細菌内で，メタノール脱水素酵素（MDH）がLa³⁺によって誘導されることが見いだされた⁴⁾。また，RE³⁺依存型のMDHが種々の微生物群に一般的な酵素であることが明らかとなり，2014年にはRE³⁺が必須因子である栄養細菌が見つかった⁵⁾。

生態系の物質循環において，RE³⁺が重要な役割を担うことが証明されたことで，関連研究が加速した。その流れの中で，メチル栄養細菌のMDHに関する研究に取り組んでいたCotruvoらは，そのペリプラズム空間に存在する新たなRE³⁺結合型タンパク質を発見し，Lanmodulin（LanM）と名付けた⁶⁾。

3 LanMの構造とRE³⁺結合親和性⁷⁾⁸⁾

LanMは，12 kDaの分子で，EF handと呼ばれる二次構造モチーフを四つ有する（図1 A, B）。EF handは，Ca²⁺結合タンパク質であるCalmodulin（CaM）に代表されるヘリックス-ループ-ヘリックスの構造で，ループ部分に金属イオンが結合する。LanMでは，EF1-3にそれぞれ存在する4個か5個のカルボキシ基で，トータル三つのRE³⁺と結合する（図1 C）。NMRを用いたY³⁺結合型のY³⁺-LanMの構造解析で，EF1/EF4とEF2/EF3がペアであり，三つのヘリックスがコンパクトな疎水コアを持つ構造であることが明らかとなった。EF handのペアはCaMとは異なり，また，LanMの各EF hand間はCaMよりも短くて全体的にコンパクトな構造である。一方で，CaMと同様に，LanMも金属イオンとの結合によってタンパク質の構造が変化する。

RE³⁺とEF1-3の結合の解離定数（K_d）は，5~25 pM程度である（表1）。RE³⁺とイオン半径が同程度であるCa²⁺とのK_dは7.1×10⁻⁴ Mであり，RE³⁺-LaMのK_dとは10⁸倍の違いがある（表1）。*In vitro*でCa²⁺よりもRE³⁺とより強く結合する他のタンパク質のEF handは知られているが，そのK_dの違いはせいぜい10²か10³倍程度である⁹⁾。LanMが非常に高いRE³⁺選択性を示すことが明らかとなり，これはEF handモチーフの2番目のアミノ酸残基であるプロリン（P）が，Ca²⁺結合による構造変化を抑制する働きをするためであることが示された。このPをアラニン（A）に変えると（表1の4P→4A），RE³⁺とCa²⁺のK_dの差が小さくなり，つまり，RE³⁺選択性が低くなる。EF handモチーフの2番目のアミノ酸がPであることは珍しく，この

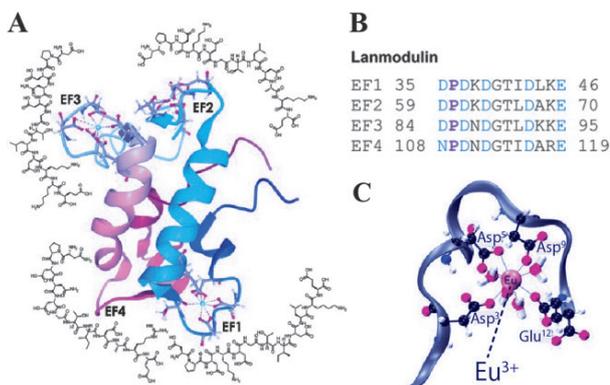


図1 A：LanMの構造⁸⁾，B：LanMの四つのEF handのアミノ酸残基配列⁶⁾，C：Eu³⁺結合型EF1のMDシミュレーション⁸⁾

Lanmodulin : A Highly Selective Lanthanide-binding Protein.

表 1 LanM と金属イオンの結合解離定数

| protein | metal ion | K_d (M) | |
|-------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| LanM | La ^{III} | $(5.3 \pm 0.6) \times 10^{-12}$ | |
| | | $(1.7 \pm 0.4) \times 10^{-11}$ | |
| | | Nd ^{III} | $(5.3 \pm 0.6) \times 10^{-12}$ |
| | | Sm ^{III} | $(6.6 \pm 2.8) \times 10^{-12}$ |
| | | Gd ^{III} | $(1.0 \pm 0.4) \times 10^{-11}$ |
| | Tb ^{III} | $(2.1 \pm 0.2) \times 10^{-11}$ | |
| | Ho ^{III} | $(2.5 \pm 0.4) \times 10^{-11}$ | |
| | Y ^{III} | $(1.7 \pm 0.2) \times 10^{-11}$ | |
| | Ca ^{II} | $(7.1 \pm 0.3) \times 10^{-4}$ | |
| | 4P→4A | La ^{III} | $(1.0 \pm 0.1) \times 10^{-12}$ |
| Nd ^{III} | | $(4.4 \pm 0.5) \times 10^{-13}$ | |
| Ca ^{II} | | $(2.6 \pm 0.3) \times 10^{-6}$ | |

P が LanM の RE³⁺ 選択性に関与していると考えられている。

4 LanM を用いる RE³⁺ の検出と分離^{10)~12)}

Cotruvo らは, LanM に ECFP と citrine を結合し, RE³⁺ の結合が引き起こす LanM の構造変化により, 蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) が起こるタンパク質センサーを開発した。5 nM LanM を利用した場合の La³⁺ の検出限界は 10 nM であった。RE³⁺ の結合による FRET 効率は, Ca²⁺ の 2 倍以上であり, これまでに報告された RE³⁺ センサーと比べて, 高選択的かつ高感度に RE³⁺ を検出可能であることが示された。

RE³⁺-LanM の $K_{d,app}$ (CD スペクトル変化から算出した見かけの K_d) は, pH 5 でも 70~26 pM であり, pH 7.2 のときと比較してわずか 10 分の 1 程度である。Ca²⁺ 以外の非 RE³⁺ 金属との親和性も大きくはなく, 例えば, 1.5 M Mg²⁺, 1.5 M Ca²⁺, 0.4 M Zn²⁺, 10 mM Cu²⁺ 存在下 (pH 5) において, Nd³⁺-LanM は Nd³⁺ を保持し続けることができる。これは, RE³⁺ を含有する使用済み原材料よりも高濃度の非 RE³⁺ を含有する条件である。近年, RE³⁺ のソースとして期待されている Lignite (褐炭) や使用済み電子機器から金属イオンを酸浸出し, LanM を用いて RE³⁺ を回収できることも示された (図 2)。

さらに, トリプトファンを導入した LanM, T9W-

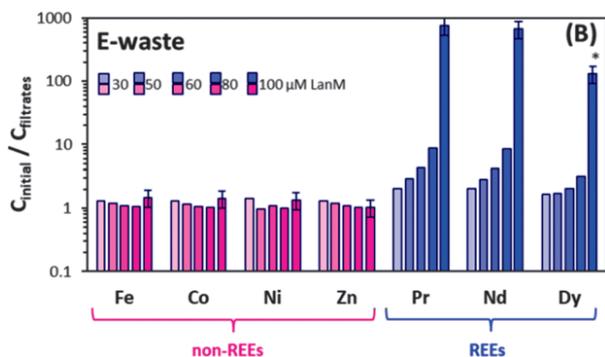


図 2 電気電子機器廃棄物の酸浸出液からの金属イオン回収

LanM では, 酸性鉱山排水 (pH 3) で, 3 ppb の Tb³⁺ を検出できることも報告された。

5 おわりに

本稿では, RE³⁺ を選択的に結合する LanM に関する研究を紹介した。前述の通り, EF hand のカルボン酸に結合する RE³⁺ の局所的な配位構造に特異性はない。タンパク質の高次構造が RE³⁺ 選択性の発現に重要であることは明らかであり, 実際に, 小分子のキレート試薬よりも優れた RE³⁺ 選択性が実証されている¹¹⁾。

LanM の RE³⁺ 間での親和性を比較すると, 重希土類よりも軽希土類の方がわずかに高い (K_d が小さい) が, 相互分離を達成できるほどの違いは認められていない。しかし, 実際の自然界では, La から Sm だけが, メタノール中での細菌成長をサポートするのである。つまり, 生体系では, さらなる高度なイオン認識により, RE³⁺ 間の違いも識別している。今後, 生体高分子を利用する RE³⁺ 相互分離が, 現在最も高選択的とされている人工分子系を超えられるのか, 非常に楽しみである。

文 献

- O. S. Sholl, R. P. Lively : *Nature*, **532**, 435 (2016).
- X. Guo, Q. Zhou, T. Lu, M. Fang, X. Huang : *Ann. Bot. (Lond.)*, **100**, 1459 (2007).
- Y. Hibi, K. Asai, H. Arafuka, M. Hamajima, T. Iwama, K. Kawai : *J. Biosci. Bioeng.*, **111**, 547 (2011).
- T. Nakagawa, R. Mitsui, A. Tani, K. Sasa, S. Tashiro, T. Iwama, T. Hayakawa, K. Kawai : *PLoS One*, **7**, e50480 (2012).
- A. Pol, T. R. M. Barends, A. Dietl, A. F. Khadem, J. Eygensteyn, M. S. M. Jetten, H. J. M. Op den Camp : *Environ. Microbiol.*, **16**, 255 (2016).
- J. A. Cotruvo, E. R. Featherston, J. A. Mattocks, J. V. Ho, T. N. Laremore : *J. Am. Chem. Soc.*, **140**, 15056 (2018).
- E. C. Cook, E. R. Featherston, S. A. Showalter, J. A. Cotruvo : *Biochemistry*, **58**, 120 (2019).
- S. M. Gutenthaler, S. Tsushima, R. Steudtner, M. Gailer, A. Hoffmann-Röder, B. Drobot, L. J. Daumann : *Inorg. Chem. Front.*, **9**, 4009 (2022).
- E. E. Snyder, B. W. Buoscio, J. J. Falke : *Biochemistry*, **29**, 3937 (1990).
- J. A. Mattocks, J. V. Ho, J. A. Cotruvo : *J. Am. Chem. Soc.*, **141**, 2857 (2019).
- G. J.-P. Deblonde, J. A. Mattocks, D. M. Park, D. W. Reed, J. A. Cotruvo, Y. Jiao : *Inorg. Chem.*, **59**, 11855 (2020).
- E. R. Featherston, E. J. Issertell, J. A. Cotruvo : *J. Am. Chem. Soc.*, **143**, 14287 (2021).



半田 友衣子 (Yuiko TASAKI-HANDA)

埼玉大学大学院理工学研究科 (〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255)。東京工業大学大学院理工学研究科 化学専攻。博士 (理学)。《現在の研究テーマ》リン酸エステル配位高分子を用いるイオン・分子認識。《主な著書》“PCP/MOF および各種多孔質材料の作り方, 使い方, 評価解析”, (分担執筆) (技術情報協会), (2019)。《趣味》ポルダリング。