ヘムタンパク質六量体により架橋されたポリアクリルアミドゲル の力学特性における変異導入の影響

(阪大院工) ○日髙 由梨・影山 和希・大洞 光司・林 高史

Mechanical Properties of Polyacrylamide Gel Containing an Engineered Hexameric Hemoprotein Mutant as a Cross-linker (*Graduate School of Engineering, Osaka University*) OYuri Hidaka, Kazuki Kageyama, Koji Oohora, Takashi Hayashi

Biomaterials consisting of proteins and synthetic polymers are attracting attention. Hemoprotein is one of the potent building blocks for such biomaterials because the thermal stability depends on the environment of the heme cofactor. Toward biomaterials with unique mechanical properties, our group constructed a polyacrylamide gel cross-linked by a hexameric hemoprotein, HTHP. In this work, mutation experiments of HTHP were carried out. First, Arg38 residue near the heme binding site was replaced with Ala (Fig. 1). The R38A mutant of HTHP shows lower thermal stability of the non-covalent interaction between the heme cofactor and protein matrix relative to wild type HTHP. Next, the mutant was reconstituted with the synthetic heme possessing an acryloyl group at the terminal of the propionate side chain. The obtained protein was used as a cross-linker to afford a HTHP-mutant-based polyacrylamide gel. Tensile tests indicate the decreased mechanical properties by this mutation relative to a wild type HTHP-based polyacrylamide gel.

Keywords: Polyacrylamide Gel, Mutation, Heme, Reconstituted Protein, Tensile Test

タンパク質と合成高分子を複合化したバイオマテリアルが多数報告されている い。特に、ヘムタンパク質は熱安定性などの性質が、ヘムの結合環境によって変化するため、魅力的な構成要素である。我々はヘムタンパク質におけるヘムとタンパク質マトリクス間の結合に注目し、ヘムタンパク質六量体(HTHP) ので架橋されたポリアクリルアミドゲルを開発している。本研究では、HTHPへの変異導入によるゲルの力学物性変化を評価した(Fig. 1)。ヘム結合部位近辺の 38 番目のアルギニン残基をアラニン残基に置換した変異体の熱安定性は、ヘムとタンパク質マトリクス間の結合の低下によって減少した。この変異体のヘムをアクリロイル基を有する人工へムに置換し、得られた再構成タンパク質を架橋ユニットとするゲルを作製した。引張り試験により、野生型を用いて作成したゲルに比べてヤング率が低下することを明らかにした。

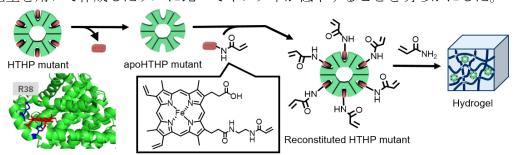


Fig. 1. Preparation of hydrogel cross-linked by reconstituted HTHP mutant.

- 1) H. Li et al., Adv. Funct. Mater., 2014, 24, 7310-7327.
- 2) H. Dobbek et al., J. Mol. Biol., 2011, 368, 1122–1131.