

アダプタータンパク質LGN TPRドメインによる Frmpd4/Preso1認識の構造基盤

The structural basis for recognition of Frmpd4/Preso1 by the TPR domain of the adaptor protein LGN

高柳宏樹、湯澤聡*、住本英樹

九州大学大学院医学研究院生化学分野、〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1

Hiroki Takayanagi, Satoru Yuzawa, Hideki Sumimoto

Department of Biochemistry, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences,

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

1 はじめに

LGNは細胞分裂時の紡錘体配向や好中球の遊走における極性の制御において中心的な役割を果たし、細胞膜に局在する3量体Gタンパク質 α サブユニットG α と、mInscやNuMAなどのパートナー分子を繋ぐアダプターとして機能する。これらパートナー分子はいずれもLGN TPRドメイン(LGN-TPR)に結合する。我々はこれまでにLGN-TPRとmInscの複合体の結晶構造を解析し、その構造情報をもとにLGNの新たなパートナー分子としてFrmpd4(別名Preso1)を見出した。そして、Frmpd4はmInscのLGN結合部位と部分的に類似した領域を介してLGN-TPRと直接相互作用することを示した [1]。本研究では、LGN-Frmpd4複合体の結晶構造解析を行い、概知のLGNとパートナー分子複合体と比較し、LGN-TPRのもつ多様な認識機構についての構造学的基盤を明らかにした [2]。

2 実験

LGN-TPRは大腸菌を用いて発現・精製し、LGNとの相互作用に関わる領域を含むFrmpd4由来ペプチドは化学合成した。これらをモル比1:2の割合で混合し、ポリエチレングリコール3350を沈殿剤溶液として用い、マイクロシーディングを行なうことで単結晶を得ることに成功した。抗凍結剤には、linear perfluoro polyether MW 2700を用いた。結晶は空間群P6₁22に属し、格子定数は、 $a = 91.78 \text{ \AA}$, $c = 176.78 \text{ \AA}$ であった。LGN-mInsc複合体のLGN部分をサーチモデルとした分子置換法により初期位相を得た。Refmac5による精密化とCootによるモデル構築を繰り返し、精密化を行った。最終的に、LGN-Frmpd4複合体の結晶構造を分解能2.0 Åで決定した(図1)。

3 結果および考察

LGN-TPRは、8つの連続したTPRモチーフが右巻きスーパーヘリックスを形成する。LGN-mInsc複合体に見られたLGN-TPRのC末端のキャッピングヘリックスは、LGN-Frmpd4複合体ではディスオーダーしていた。Frmpd4は伸びた構造をもち、LGN-TPR

の内側凹面にLGNとは逆向きに配置している。主に塩橋と水素結合からなる相互作用ネットワークにより複合体が維持され、LGN-mInscとの高い相同性を認めた。既知のLGN-TPRとパートナー分子の複合体の構造と比較すると、パートナー分子はコンセンサス配列(E/Q)XEX_{4,5}(E/D/Q)X_{1,2}(K/R)X_{0,1}(V/I)からなるコア結合領域を介してLGN-TPRと相互作用することが明らかとなった。また、Frmpd4はC末端側の3₁₀ヘリックスもLGNとの結合に関与する(図1)。3₁₀ヘリックス構造を形成するTyr1010やPhe1011をアラニンに置換するとLGN-TPRへの親和性が低下することから、これらの残基もLGN-TPRとの相互作用の安定化に関与していることが明らかとなった。

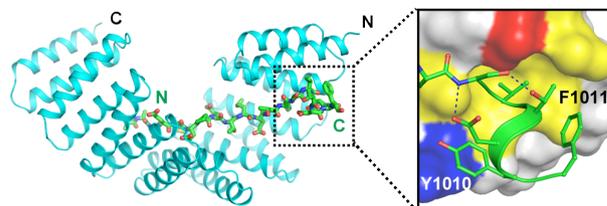


図1 LGN-Frmpd4複合体の全体構造とFrmpd4 3₁₀ヘリックス領域を介した相互作用

謝辞

PFのビームラインスタッフの方々には大変お世話になりました。深く感謝いたします。

参考文献

- [1] S. Yuzawa *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **108**, 19210–19215 (2012)
[2] H. Takayanagi *et al.*, *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* (Pt2), 175–83 (2015)

* yuzawa@biochem2.med.kyushu-u.ac.jp