

光活性化アデニル酸シクラーゼ(PAC)の構造解明 Structural insight into photoactivation of an adenylyl cyclase from a photosynthetic cyanobacterium

大木規央^{1*}, 杉山佳奈¹, 河合文啓¹, ティムジェレミー¹, 伊関峰生², 朴三用¹
¹横浜市立大学, 〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-29
²東邦大学, 〒274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1

1 はじめに

光活性化アデニル酸シクラーゼ (PAC; Photoactivated Adenylyl Cyclase) [1] は動物・植物で普遍的な情報伝達物質であるセカンドメッセンジャー (cAMP) の生産を光で制御できる生体タンパク質であり、生体内での光スイッチとして医学的な応用が期待される分子である。最近、シアノバクテリア (*Oscillatoria acuminata*) 由来の PAC (OaPAC) が発見された。OaPAC は 366 アミノ酸残基からなり、フラビン色素 (FAD) を結合する光センサードメイン (BLUF: sensors of Blue-Light Using FAD) と cAMP を合成する触媒ドメイン (AC: adenylyl cyclase) および、その両者をつなぐリンカー領域からなる。本研究では、OaPAC タンパク質が青色光刺激による立体構造や、cAMP 合成酵素活性メカニズムの解明を目指す。さらには、医学分野における光遺伝学への応用や再生医療、新薬開発の基礎的研究に貢献を目指す。

2 実験

大腸菌 ArcticExpress を用いて OaPAC を発現させ、培養、精製をしたあと、クエン酸を含む結晶化条件で結晶を得た。その後、水銀を含んだ結晶化溶液に結晶を 24 時間浸漬させ、その結晶を単波長異常分散法により X 線回折データ測定をおこなった。データ測定は KEK-PF の BL17A および BL1A でおこない、2.9Å の分解能のデータを得ることができた[2]。

3 結果および考察

OaPAC の全体構造は、12 本の α -ヘリックスと 13 本の β -シートから成り立っている。N 末端にはフラビン結合 BLUF ドメインと C 末端側にはアデニル酸シクラーゼ(AC)ドメインから成り、ダンベ型になっている。また、それぞれのドメイン同士は隣り合わせになっていることが明らかとなった。(図 1)

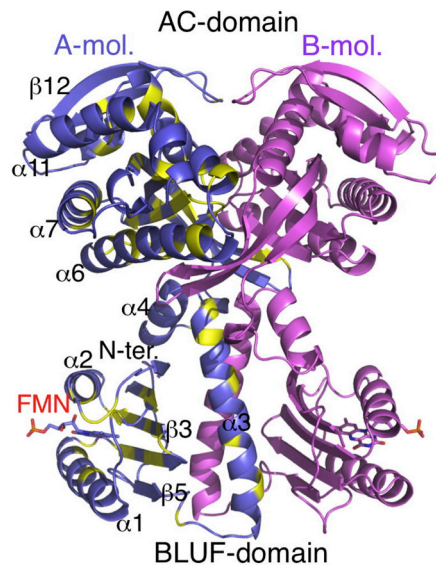


図 1 : OaPAC 全体構造

OaPAC の BLUF ドメインは 2 本の α -ヘリックスと 5 本の β -シートからなる典型的な BLUF 構造を形成していた。また、AC ドメインは 8 本の α -ヘリックスと 7 本の β -シートから成っており、類似構造の AC ドメインとほぼ一致していた。AC ドメインでは基質 ATP 結合部位と思われる広い領域が存在しており、酵素反応に重要な金属結合に関わるアミノ酸残基 Asp156, Asp200 も存在し、cAMP 酵素反応に関わっている事が確認された。OaPAC の α 3ヘリックスは非常に長く、その C 末端は上部の AC-ドメインにまで達している。 α 3ヘリックスの外側表面には疎水性残基が集中し、その疎水性相互作用により二量体が形成されており、唯一 OaPAC の特徴的な構造であり、PAC ファミリーにも保存されていることが分かった。BLUF の保有するフラビン分子とアデニル酸シクラーゼの活性サイトとの距離は 48Å ほど離れていることが確認された。

4 まとめ

本研究により、OaPAC の構造を初めて解明することができ、この構造からタンパク質は 2 量体を形成していることが明らかとなった。

謝辞

本研究にあたり、PF のビームラインスタッフの方々に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] M. Iseki *et al.*, *Nature* **415**, 1047-1051 (2002).
- [2] M. Ohki *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.* **113**, 6659–6664 (2016)

成果

1. 第 16 回日本蛋白質科学会年会 ポスター賞受賞

* mio-ki67@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp