

小胞体糖タンパク質品質管理に関わるグルコシダーゼ II の 触媒-制御サブユニットの相互作用様式

Interaction mode between catalytic and regulatory subunits in glucosidase II involved in ER glycoprotein quality control

佐藤匡史¹, 年森隆泰¹, 野田勝紀², 内山進^{2,3}, 加藤晃一^{1,3,*}

¹名古屋市立大学大学院薬学研究科, 〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

²大阪大学大学院工学研究科, 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

³岡崎統合バイオサイエンスセンター, 〒444-8787 岡崎市明大寺町東山 5-1

Tadashi Satoh¹, Takayasu Toshimori¹, Masanori Noda², Susumu Uchiyama^{2,3}, and Koichi Kato^{1,3,*}

¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Nagoya 467-8603, Japan

²Graduate School of Engineering, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan

³Okazaki Institute for Integrative Bioscience, Okazaki 444-8787, Japan

1 はじめに

糖加水分解酵素 (GH) ファミリー31 は、ポンペ病の原因遺伝子産物である α グルコシダーゼや糖尿病治療薬の標的分子であるスクラーゼ-イソマルターゼを含む、医学・薬学・産業上重要な α グリコシダーゼが数多く分類されている。GH31 ファミリー酵素において、糖タンパク質の小胞体品質管理に関わるグルコシダーゼ II は、唯一結合パートナーを有する酵素である。この結合サブユニットは N 末端側に位置する G2B ドメインを介して触媒サブユニットと相互作用する一方で、C 末端部の MRH ドメインで糖鎖を認識することが明らかになっている。これまで、触媒サブユニットおよび MRH ドメインによる糖鎖認識様式が明らかになっているが [1,2]、触媒-制御サブユニット間の相互作用様式は明らかではなかった。

2 実験

好熱カビ *Chaetomium thermophilum* 由来のグルコシダーゼ II 触媒および制御サブユニット G2B ドメインの調製は大腸菌を用いて行った。触媒-制御サブユニット複合体の結晶は、20%ポリエチレングリコール 3350, 0.2 M リン酸アンモニウム, pH 7.5 を結晶化剤とするハンギングドロップ蒸気拡散およびマイクロシーディング法により作成した。複合体結晶の X 線回折強度データは、BL-1A ビームライン ($\lambda = 1.1000 \text{ \AA}$) を用いて、2.20 \AA の分解能のデータを 10.8%の R_{merge} の精度で収集した。

3 結果および考察

回折実験の結果、結晶は斜方晶系で空間群 $P2_12_1$ に属し、格子定数は $a = 82.7$, $b = 88.7$, $c = 173.1 \text{ \AA}$ であった。本複合体の初期位相の決定は、触媒サブユニットの結晶構造 (PDB コード: 5DKX) をサーチモデルとした分子置換法により行った。その結果、

非対称単位中に触媒サブユニットと G2B ドメインからなる 1:1 の複合体が存在していることが明らかとなり、超遠心分析による分子量測定の結果と一致していることを確認した。

構造解析の結果、制御サブユニット G2B ドメインは 5 つの分子内ジスルフィド結合を持ち、カルシウムイオンが 2 分子結合していることが明らかとなった。また、G2B ドメインは GH31 酵素において特徴的な連続したアルギニン 2 残基を介して相互作用していることが見出された (図 1)。

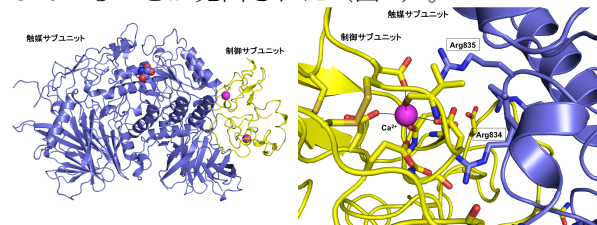


図 1 : 小胞体グルコシダーゼ II の触媒-制御サブユニット複合体の結晶構造

4 まとめ

今回我々は、GH31 酵素のヘテロダイマー複合体の結晶構造を初めて決定した [3]。この構造解析によって、小胞体グルコシダーゼ II の触媒サブユニットが、協働的な基質認識に関わるレクチンドメインを有する制御サブユニットをどの様にしてリクルートするのかを明らかにした。以上本研究を通じて、この特徴的な GH31 ファミリー酵素による機能拡張の構造基盤を解明することに初めて成功した。

参考文献

- [1] L.J. Olson *et al.*, *Biochemistry* **54**, 4097-4111 (2015).
- [2] T. Satoh *et al.*, *Sci. Rep.* **6**, 20575 (2016).
- [3] T. Satoh *et al.*, *Protein Sci.* **25**, 2095-2101 (2016).

* kkato@phar.nagoya-cu.ac.jp