

マイトファジーを担う受容体 Atg32 の構造解析 Structural study of a mitophagy receptor Atg32

鈴木浩典, 野田展生*

微生物化学研究会, 微生物化学研究所 〒141-0021 東京都品川区上大崎 3-14-23

Hironori SUZUKI and Nobuo N. NODA*

Institute of Microbial Chemistry, Microbial Chemistry Research Foundation,
3-14-23 Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141-0021, Japan

1 はじめに

オートファジーは真核生物に保存された基本的な細胞内分解系であり、蛋白質や核酸、脂質などの生体高分子に加え、ミトコンドリアや小胞体、核などのオルガネラ、さらには細胞内に侵入した細菌まで、サイズも種類も多様なものの分解を担っている。オートファジーによる選択的なミトコンドリア分解は“マイトファジー”と呼ばれ、パーキンソン病などの神経変性疾患との関連から注目を集めている [1]。

出芽酵母におけるマイトファジーは、Atg32 と呼ばれる受容体タンパク質がその選択性に関わっている。Atg32 は一回膜貫通型タンパク質であり、ミトコンドリアの外膜に局在する。全長 529 残基のうち、7 割以上は細胞質側に呈示された水溶性領域であり、この細胞質領域がオートファジーの基本的なマシーナリータンパク質である Atg8 や Atg11 と直接結合する [2]。さらに細胞質領域のリン酸化および脱リン酸化がマイトファジー活性を制御していることが報告されている [3,4]。しかしながら、Atg32 の細胞質領域は他の構造既知のタンパク質との配列相同性を示さず、どのような立体構造を持つのか不明であった。

2 実験

そこで Atg32 の細胞質領域の構造解析を目的とし、まず生化学的解析を進めた。大腸菌で細胞質領域を様々な長さで発現し、安定性を調べたところ、細胞質領域の C 末端側約半分が安定なドメイン構造を有することが示唆された。このドメイン (Atg32C) は Atg8 結合モチーフを含まないが、Atg11 との結合能を有することを確認した。そこで Atg32C の結晶化スクリーニングを行ない、良好な結晶を得ることに成功した。

ビームライン BL-1A で X 線回折実験を行った結果、分解能 1.35 Å の良好な回折データが得られた。そこでセレノメチオニン標識したタンパク質を用いて結晶を調製し、再度 BL-1A を用いて Sc-SAD データを収集した。得られたデータに関しプログラム Phenix を用いて位相決めを行ない、プログラム Coot

を用いたモデリングおよび Phenix を用いた構造精密化を進めることで結晶構造を決定した。

3 結果および考察

決定した Atg32C の全体構造は球状の安定なドメイン構造を示した。相同性の高い立体構造を検索した結果、低分子量 GTPase に類似した構造であることが明らかとなった。ただし GTP 結合部位は有さず、GTPase 活性は持たないと考えられる。Atg32C は Atg11 と結合することから、現在 Atg11 との結合面の解析および Atg32C-Atg11 複合体の結晶化を進めている。

4 まとめ

Atg32 の細胞質ドメインの結晶構造を決定することに成功した。得られた立体構造情報は、Atg32 の機能やマイトファジーのメカニズムを明らかにするために活用できると考えられる。

参考文献

- [1] S. Pickles *et al.*, *Curr. Biol.* **28**, R170 (2018).
- [2] K. Okamoto *et al.*, *Dev. Cell* **17**, 87 (2009).
- [3] T. Kanki *et al.*, *EMBO Rep.* **14**, 788 (2013).
- [4] K. Furukawa *et al.*, *Cell Rep.* **23**, 3579 (2018).

* nn@bikaken.or.jp