

古細菌の集合シャペロン様タンパク質 PbaA の立体構造解析

Structure of archaeal homolog of proteasome-assembly chaperone PbaA

佐藤匡史¹, 矢木-内海真穂^{1,2}, 加藤晃一^{1,2,*}

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生命創成探究センター, 自然科学研究機構, 〒444-8787 岡崎市明大寺町東山 5-1

Tadashi Satoh¹, Maho Yagi-Utsumi^{1,2}, and Koichi Kato^{1,2,*}

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

²Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS),
National Institutes of Natural Sciences, Okazaki 444-8787, Japan

1 はじめに

真核生物におけるプロテアソームの構造形成は、集合シャペロンの介助を必要とする。一方、古細菌のプロテアソームは集合シャペロンの介助なしに自発的に形成される。それにもかかわらず、古細菌には PbaA と PbaB とよばれる 2 種類の集合シャペロンのホモログが存在しており、これらのタンパク質はいずれも C 末端部位にプロテアソームと結合するモチーフを有している。これまで我々は、PbaB はホモ 4 量体を形成し、触手の様に伸びた C 末端領域を介してプロテアソームを活性化する機能を持つことを見出してきた[1]。また、PbaA は PbaB と異なり、ホモ 5 量体を形成し、C 末端領域が 5 量体のコア部分の疎水性表面を覆うように折りたたまれた構造をとることを明らかにしてきた[2]。興味深いことに、PbaA はプロテアソームに対する結合能を有していない。

2 実験

超好熱菌 *Pyrococcus furiosus* 由来の PbaA の調製は大腸菌を用いて行った。PbaA の結晶は、30% 2-methyl-2,4-pentanediol, 0.1 M 酢酸ナトリウム (pH 4.6), 20 mM 塩化カルシウムを結晶化剤とするハンギングドロップ蒸気拡散法により作成した。結晶の X 線回折強度データは、NW12A ($\lambda = 1.0000 \text{ \AA}$) を用いて、2.55 \AA の分解能のデータを 4.3% の R_{merge} の精度で回折強度データの収集を行った。

3 結果および考察

回折実験の結果、結晶は単斜晶系で空間群 $P2_1$ に属し、格子定数は $a=92.69$, $b=200.94$, $c=92.76 \text{ \AA}$ であった。初期位相の決定は、斜方晶系の PbaA の結晶構造 [2] (PDB コード: 3WZ2) をサーチモデルとした分子置換法により行った。構造解析の結果、ホモ 5 量体のコア部分から C 末端ヘリックスが触手の様に伸びた構造をとることが見出された。すなわち、PbaA は C 末端ヘリックスが折りたたまれた閉構造と、それらがコアから突き出した開構造の 2 通りの構造をとることがわかった (図 1)。そこで、

X 線小角散乱と高速 AFM を用いた溶液中における PbaA の構造解析を行った。その結果、PbaA は溶液中ではもっぱら閉構造を形成していることが示された。これにより PbaA がプロテアソームに結合能を示さない理由が明らかとなった[3]。

そこで我々は、C 末端の開構造がプロテアソーム活性化に関わるのではないかと、との着想を得て、構造情報に基づいた分子の設計および改変を通じて、PbaA にプロテアソーム結合能を賦与することを試みた。その結果、PbaA の C 末端のディスオーダー領域を PbaB の対応する部分と入れかえることにより作製したキメラタンパク質では開構造の割合が増大しており、プロテアソームに対する結合能を獲得していることが、溶液散乱と高速 AFM 観測により明らかとなった。また実際に、生化学実験により、作出したキメラタンパク質がプロテアソーム活性化能を有していることを示した。

本研究では、PbaA の構造情報に基づき、C 末端領域のコンフォメーションを制御することによりプロテアソーム活性化能を賦与することに成功した。

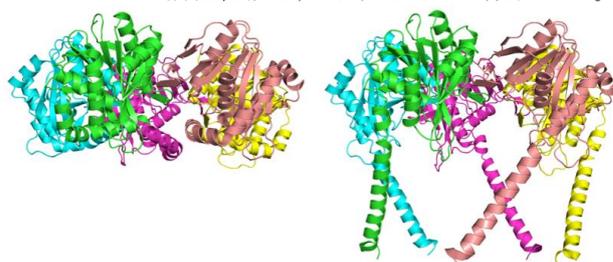


図 1 : 閉構造型と開構造型の PbaA の結晶構造

参考文献

- [1] K. Kumoi *et al.*, *PLoS ONE* **8**, e60294 (2013).
 [2] A. Sikdar *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **453**, 493-497 (2014).
 [3] M. Yagi-Utsumi *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* **31**, 29-36 (2018).

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