

微小管の脱チロシン化に触媒する VASH1-SVBP 複合体の構造解析 Structural analysis of human VASH1-SVBP complex

池田聡人¹、浦田せいあ¹、安藤格士¹、鈴木康弘²、佐藤靖文²、西野達哉^{1*}

¹東京理科大学先進工学部、〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1

²東北大学未来科学技術共同研究センター(NICHe)

Akihito IKEDA¹, Seia URATA¹, Tadashi ANDO¹, Yasuhiro SUZUKI², Yasufumi SATO² and Tatsuya NISHINO^{1*}

¹Faculty of Advanced Engineering, Tokyo University of Science, 6-3-1 Niiyuku, Katsushika, Tokyo 125-8585, Japan, ²New Industry Creation Hatchery Center, Tohoku University, 6-6-10 Aramaki Aza Aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan

1 はじめに

微小管は動的な中空の円筒形構造で、 α/β チューブリンのヘテロダイマーによって構成されている。真核生物の微小管は細胞と組織特異的にいくつかのアイソタイプが知られており、C末端テール領域の長さや組成が異なる。VASH1-SVBP 複合体は血管新生を抑制する因子として最初に報告され[1]、近年 VASH1-SVBP 複合体が微小管のC末端テールの脱チロシン化の活性を有することが報告された。本研究では、VASH1-SVBP 複合体の立体構造解析を行った。

2 実験

大腸菌を用いた組換え蛋白質発現系により、ヒト VASH1 コア領域と SVBP の複合体を大量に調整し、結晶化を行った。結晶化はシッティングドロップ蒸気拡散法により行い、PF-BL1A にてデータ測定を行った。XDS を用いてデータ処理後、Phenix を用いて分子置換および構造の精密化を行った。

3 結果および考察

XDS による回折処理の結果、結晶は空間群 $P6_322$ に属しており、格子定数は $a=b=71.8\text{\AA}$ 、 $c=215.8\text{\AA}$ 、 $\alpha=\beta=90^\circ$ 、 $\gamma=120^\circ$ であった。非対称単位中には VASH1, SVBP がそれぞれ一分子ずつ存在した。結晶の分解能は 2.3\AA で、最終的なモデルには結晶化溶液中の硫酸イオンの電子密度が 4 分子確認された。既報告の VASH1-SVBP 複合体と立体構造を比較したところ、全体構造は非常によく類似し、rmsd は 0.42\AA であった。一方、詳細に構造を比較したところ、N 末端領域の部分が他の構造と一致せず、突出していた。この突出した N 末端領域は、隣接する結晶学的対称性によって関連付けられる VASH1-SVBP 複合体に挿入されていた。したがって、今回立体構造解析した VASH1-SVBP 複合体は結晶中でヘテロ 4 量体を形成していた(図 1)[2]。これまでに約 13 個の VASH1-SVBP 複合体の立体構造が知られているが、初めて 4 量体を形成した構造であった。精製した VASH1-SVBP 溶液は主に 2 量体を形成し

ていたことから、結晶化中に 4 量体が形成されたと考えられる。

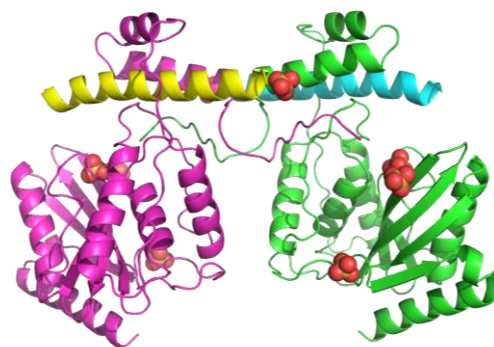


図 1 : VASH1-SVBP 複合体の 4 量体結晶構造 VASH1(緑, マゼンタ)と SVBP(シアン, 黄色) を色分け表示している。硫酸イオンは球状モデルで表示。

4 まとめ

この 2、3 年の間に、10 個以上の VASH1-SVBP 複合体の結晶構造が報告されたが、いずれもヘテロ 2 量体であった。本報告で N 末端領域の構造的な柔軟性と 4 量体形成が初めて明らかになった。興味深いことに、昨年報告された、クライオ電子顕微鏡による微小管と VASH1-SVBP 複合体の構造解析に、今回解析した VASH1-SVBP 4 量体を重ね合わせると、片方の VASH1-SVBP 複合体が微小管と衝突してしまっただ。今後は VASH1-SVBP 複合体の 4 量体の意義や N 末端領域の柔軟性について解明していきたい。

謝辞

回折データ測定において丁寧にサポートしていただいたビームラインスタッフおよび BINDS 課題でお世話になった千田美紀様に感謝申し上げます。

参考文献

[1] Y Sato, J. Biochem. **153**, 5-11 (2013).

[2] A. Ikeda, S. Urata, T. Ando, Y. Suzuki, Y. Sato and
T. Nishino, *Acta Cryst. D***76**, 993-1000 (2020).
* tnishino@rs.tus.ac.jp