

Crystal structure of the GAPDH-CP12 complex from *Synechococcus elongatus*Hiroyoshi Matsumura^{1*}, Akihiro Kai¹, Tsuyoshi Inoue¹¹Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University**1 はじめに**

植物は、カルビンサイクルと呼ばれる二酸化炭素固定経路の酵素群によって、大気中から二酸化炭素を吸収し、糖に変換して成長する。本研究で対象としている2種類の酵素（Phosphoribulokinase; PRK, NADP⁺-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; GAPDH）は、カルビンサイクルで機能する酵素であり、その酵素の活性は、光強度に応答して調節されることで知られる。具体的には、①暗所で酸化されたチオレドキシンによってこれら分子の分子内でジスルフィド結合が形成され、それによって酵素が不活性化する、また、②同じく酸化されたチオレドキシンがリンカータンパク質 CP12 を酸化し、さらに NAD(H)がトリガーとなって GAPDH-CP12-PRK 超分子複合体を形成し、それによって GAPDH, PRK が不活性化されるという調節が知られている。特に、②の調節メカニズムは最近その生理学的重要性が指摘されており、注目が集まってきているがその分子メカニズムは全く未知であった。

さらにタンパク質科学として興味深いことに、CP12 は、単独では立体構造をとらないタンパク質、すなわち、Intrinsically Disordered Protein (IDP) である。そして、CP12 は、GAPDH と結合しないと PRK と結合できない。つまり、元来特定の立体構造をとらない CP12 は、GAPDH と結合することで部分的に折り畳まれ、その折り畳みがあって初めて PRK と結合できると予想される。このような、IDP の段階的折り畳みメカニズムと GAPDH、PRK の阻害メカニズムを解明するため、本研究では、X線構造解析法による、GADPH-CP12-NAD 複合体の構造解析に取り組んだ。

2 実験

BL1A, 17A にて GAPDH-CP12-NAD の三者複合体の結晶の X 線回折実験を行った結果、2.5Å 分解能の回折強度データを収集した。ここで初めて位相を決定することができ、最終的に 2.2 Å 分解能での構造解析に成功した。

3 結果および考察

GAPDH-CP12-NAD 複合体の立体構造を 2.2 Å 分解能で決定した[1] (図 1)。CP12 の C 末端部分 (Thr53-Asp75) のみが GAPDH と結合して立体構造

を形成し、その他の部分は特定の立体構造を持たないことが分かった。さらに、CP12 はジスルフィド結合を分子内に有し、同時に NAD とも結合していたことから、GAPDH との結合に CP12 の酸化と NAD が必須である理由が明らかとなった。また、GAPDH の基質結合部位は CP12 によってふさがれており、GAPDH が CP12 の結合によって不活性化する原因が明らかとなった。

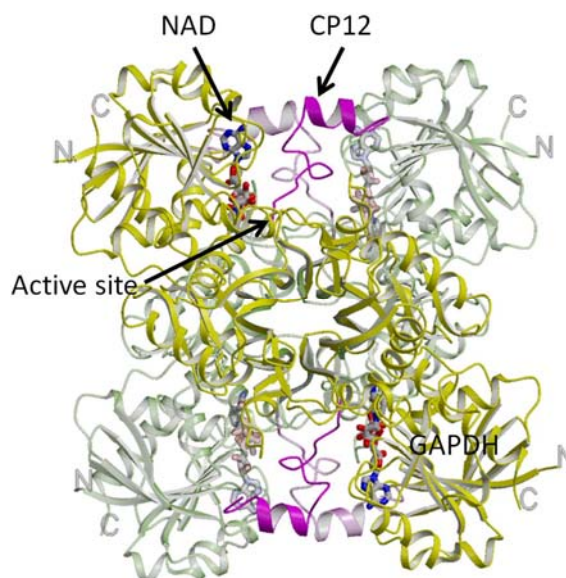


図 1 : GAPDH-CP12 複合体の立体構造

4 まとめ

本研究によって CP12 による GAPDH 活性の阻害メカニズムが示された。

謝辞

ビームラインサイエンティストの方々には回折強度データの収集に当たり大変御世話になりました。この場をお借りし深く感謝いたします。

参考文献

[1] H. Matsumura, *et al.*, *Structure* **19**, (2011) 1846.

* matsumura@chem.eng.osaka-u.ac.jp