

トマトモザイクウイルスのゲノム複製阻害因子 Tm-1 の結晶構造解析 Crystal structure of the tomato mosaic virus resistance protein Tm-1

加藤悦子^{1,*}, 毛塚雄一郎²

¹(独)農業生物資源研究所、〒305-8602 つくば市観音台 2-1-2

²岩手医科大学・薬学部、〒028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1

Etsuko Katoh^{1,*} and Yuichiro Kezuka²

¹NIAS, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, 305-8602, Japan

²Iwate Medical Univ., 2-1-1 Nishitokuta, Yahaba, shibagun, 028-3694, Japan

1 はじめに

トマトの Tm-1 タンパク質はトマトモザイクウイルス(ToMV)の複製タンパク質に結合して増殖を阻害する因子である。Tm-1 は BLAST 検索の結果、N 末端に機能未知タンパク質を、C 末端に TIM-barrel 様構造を持つことが示唆された。近年、Tm-1 の N 末端領域が ToMV RNA 複製の阻害重要であることが示唆されたことから、この領域 (Tm-1(1-431)) について立体構造を決定した。

2 実験

ToMV の複製阻害領域と予測される領域 (M1-S431 : Tm-1(431))を実験的に決定し、そのタンパク質の精製条件を決定した[1]。得られた Tm-1(431)について、沈殿化剤 : 7.5%(w/v) PEG8000, 0.4 M ammonium tartrate dibasic を用いたハンギングドロップ法により 20°Cで結晶化を行った。位相決定は、SeMet 化 Tm-1(431)タンパク質を用いた MAD 法により行った。データ処理および構造の精密化は定法により行った。

3 結果および考察

Tm-1(431)は 2 つの $\alpha\beta$ ドメイン(NN ドメイン : 1-201 および NC ドメイン : 211-431)で構成されており、そのうち NN ドメインで 2 量体を形成していることが分かった (図)。NN および NC ドメインの間および、Leu80-Ala89 は、電子密度が観測できず、柔軟性に富むループ (図の赤破線で示した領域) であることが予想された。Leu80-Ala89 は ToMV との共進化の過程で正に選択を受けた領域 (図の赤で示した領域) に含まれていることから、この領域が ToMV の複製タンパク質の認識に関与していることが予想された。Tm-1(431)の構造から NN ドメインは、安定構造を形成していること、またこのドメインだけで ToMV RNA 複製阻害能があることが明らかとなった。

Tm-1 は他の植物や菌類にもホモログが存在していることから、ToMV RNA 複製阻害能以外にも本来の機能があることが予想される。そこで、立体構造の相同性を DALI により調べた結果、NN ドメインは UDP-GlcNAc 2-epimerase と、NC ドメインはリボース結合タンパク質と類似性が高いことが分かった。

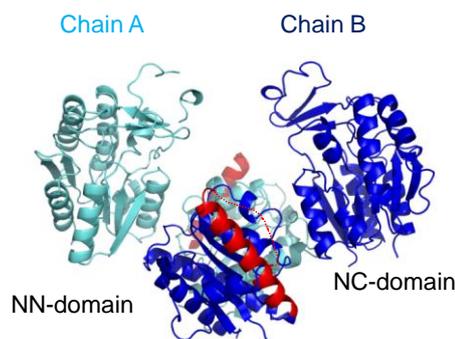


図 : Tm-1(431)の立体構造

4 まとめ

ToMV 複製阻害因子 Tm-1 の阻害ドメインの立体構造を決定した。阻害活性に重要と思われる領域は、柔軟性に富むループを形成していることが明らかとなった。今後は、Tm-1 と ToMV 複製タンパク質との複合体構造解析を行い、Tm-1 の ToMV 複製阻害機構の解明を目指したい。

謝辞

本研究は生研センター「新技術・新聞や創出のための基礎研究推進事業」により行われました。また、本研究は PF および Spring8 のスタッフの方々にサポートしていただきました。ここに感謝致します。

参考文献

[1] M. Kato *et al.*, *Protein Expr. Purif.* **89**, 1 (2013).

* ekatoh@nias.affrc.go.jp