

毛髪内タンパク質脱イミノ化酵素の構造解析 Structural Analysis of Peptidylarginine Deiminase in Hair

海野昌喜^{1,2*}, 秋元恵^{1,2}, 眞下隆太郎^{1,2}, 木澤謙司³, 高原英成^{2,4}

¹茨大・院理工, 〒316-8511 茨城県日立市中成沢町 4-12-1

²茨大・フロンティア, 〒319-1106 茨城県那珂郡東海村白方 162-1

³カネボウ化粧品・価値創成研, 〒250-0002 神奈川県小田原市寿町 5-3-28

⁴茨大・農, 〒300-0393 茨城県稲敷郡阿見町中央 3-21-1

Masaki Unno^{1,2*}, Megumi Akimoto^{1,2}, Ryutaro Mashimo^{1,2}, Kenji Kizawa³, Hidenari Takahara^{2,4}

¹Graduate School of Science and Engineering, Ibaraki University, 4-12-1 Nakanarusawa, Hitachi, Ibaraki 316-8511, Japan

²Frontier Research Center for Applied Atomic Sciences, Ibaraki University, 162-1 Shirakata, Tokai, Naka, Ibaraki 319-1106, Japan

³Skin Science Research Group, Innovative Beauty Science Laboratory, Kanebo Cosmetics Inc., 5-3-28 Kotobuki, Odawara, Kanagawa 250-0002, Japan

⁴Laboratory of Biochemistry & Molecular Biology, Department of Applied Biological Resource Sciences, Ibaraki University, 3-21-1, Chuo, Ami, Inashiki, Ibaraki 300-0393, Japan

1 はじめに

毛髪キューティクル細胞に多量発現する S100A3 タンパク質 (S100A3) は、EF ハンド型 Ca^{2+} 結合タンパク質である。S100A3 は、共局在する脱イミノ化酵素 (peptidylarginine deiminase) III 型アイソザイム (PAD3) の天然基質であり、S100A3 の 4 つのアルギニンのうち Arg51 だけが特異的にシトルリン化という翻訳後修飾を受ける。Arg51 がシトルリン化した S100A3 は、二量体から四量体に構造変化を起こし、同時に Ca^{2+} と Zn^{2+} の親和性が協同的に上がる。PAD 酵素が Ca^{2+} 依存的に活性化されることから、PAD3-S100A3 の系は、上皮バリアー形成過程の $\text{Ca}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ ホメオスタシスに関わる生化学プロセスに於いて、 $\text{Ca}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ シグナル伝達タンパク質系として働く重要な機能分子であることが明らかになってきた。本研究の目的は、PAD3-S100A3 複合体と $\text{Ca}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ 結合型 S100A3 四量体の構造を X 線結晶構造解析で明らかにすると共に、細胞内での金属イオン動態の定量的解析を行い、毛髪・皮膚といった特殊な細胞の角化という特異な生化学プロセスにおける金属イオンの恒常性維持に関わる分子の構造変換機構を解明することである。

2 実験

PAD3 のアイソザイムである PAD1 の大量精製・結晶化・X 線結晶構造解析を行った。現在のところ最もよい結晶の回折データは、BL-5A で収集された。分解能は 3.7 Å であった。

3 結果および考察

結晶の空間群は $P6_1$ に属し、格子定数 $a = b = 90.3$, $c = 372.3$ Å であった。非対称単位には、PAD1 の単

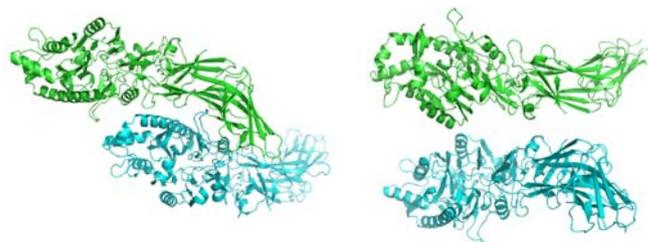


図 1 PAD1 の構造 非対称単位のとおりにより二通りの分子配置が考えられる。

量体が二分子含まれると考えられる。Matthews 係数 (V_M) は、 $2.94 \text{ \AA}^3 \text{ Da}^{-1}$ である[1]。ゲル濾過の結果では、110 ~ 120 kDa 程度の個所にピークが見られ、単量体 (75 kDa) か二量体 (150 kDa) かは明確に決定できなかった。静的光散乱装置による推定では、二量体に近い値を得たが、アグリゲーションの部分も大きく、さらなる解析が必要である。もし二量体で存在すると考えると、非対称単位の取り方により、二通りの二量体構造が考えられた (図 1)。いずれの構造も、PAD3 の二量体構造とは異なっていた。単量体であるのか、または二量体であるとするれば、今後、溶液の小角散乱などにより、溶液構造や分子間の相互作用の様式を決定したい。

まとめ

結晶構造だけでなく、溶液構造を決定することが必要である。

参考文献

[1] M. Unno *et al.*, *Acta Cryst. F* **69**, 1357-1359, (2013)
* unno19@mx.ibaraki.ac.jp