

Tom1 GAT ドメイン/ユビキチン複合体の X 線結晶構造解析

○ 阿久津誠人^{1,2}, 川崎政人², 加藤洋平³, 志波智生², 山口芳樹⁴, 加藤龍一^{1,2},
加藤晃一⁴ 中山和久³, 若槻壮市^{1,2}

(¹総研大・物構,²高エネ研・構造生物,³京大薬,⁴名古屋市立大薬)

Tom1(target of Myb 1)は、v-Myb によって発現が誘導されるタンパク質として同定された。Tom1 は、N 末端に VHS(Vps27p/Hrs/Stam)ドメイン、続いて GAT(GGA and Tom1)ドメインを有するが、その機能はほとんどわかっていない。Tom1 と同様に VHS ドメインと GAT ドメインを有する GGA(Golgi-localizing, γ -adaptin ear domain homology, ARF-binding protein)は、トランスゴルジネットワークからエンドソームへのタンパク質輸送に関与するアダプタータンパク質であるが、最近 GAT ドメインを介してユビキチンと結合することが明らかになり、ユビキチンを介したエンドソームへの輸送に関与する可能性が示唆された。

さらに、Tom1 の GATドメインもユビキチンと結合することが明らかになり、Tom1 もユビキチンを介したタンパク質の輸送に関わる可能性が考えられた。そこで、私たちは Tom1 の GATドメインとユビキチンの複合体の結晶構造解析を行ない、その相互作用の様式を調べた。

ハンギングドロップ蒸気拡散法により、Tom1 GATドメインとユビキチンとの複合体結晶の作成を試みたところ、再現性のよい単結晶を得ることができた。PF-AR NW12 ビームラインでセレンメチオニン置換体結晶を用いた 3 Å 分解能の MAD データの収集を行い位相を決定し、PF BL-6A で測定した 1.75 Å 分解能ネイティブ結晶のデータを用いて複合体の結晶構造を決定した。

GAT ドメインは 3 本の α -ヘリックスから構成されており、ユビキチンとの結合は、これまで報告されている他のユビキチン結合ドメインと同様に、ユビキチンのいわゆる Ile44 面を介した疎水性相互作用によるものであった。本シンポジウムでは、他のタンパク質によるユビキチン認識機構との比較を含め、結晶構造からみた Tom1 のユビキチン認識機構について報告する。



Tom1 GAT ドメイン/ユビキチン複合体の結晶