

細胞内小胞輸送のアダプタータンパク質 GGA3 の GAT ドメインによる ユビキチン認識の分子機構

○川崎政人¹⁾, 志波智生¹⁾, 芝陽子²⁾, 山口芳樹³⁾, 松垣直宏¹⁾, 五十嵐教之¹⁾, 鈴木守¹⁾,
加藤龍一¹⁾, 加藤晃一³⁾, 中山和久²⁾, 若槻壮市¹⁾

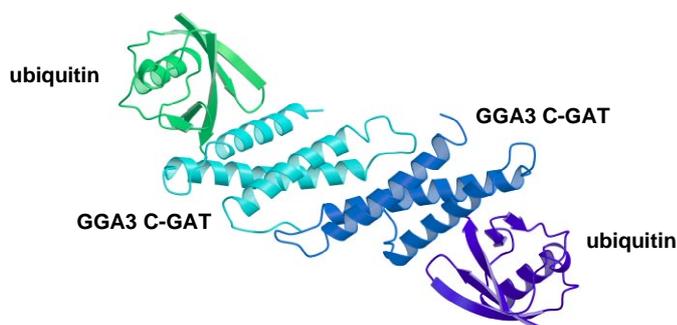
¹⁾ KEK・物構研・PF・構造生物学研究センター, ²⁾ 京都大学大学院薬学研究科,

³⁾ 名古屋市立大学大学院薬学研究科

細胞内小胞輸送のアダプタータンパク質である GGA は、N 末端側から順に、VHS (Vps27p/Hrs/Stam) ドメイン、GAT (GGA and Tom1) ドメイン、ヒンジ領域、GAE (gamma-adaptin ear) ドメインの4つの部分から構成されている。我々はこれまで、アダプタータンパク質 GGA の3つのドメイン (VHS, GAT, GAE) について、それぞれが結合するパートナーとの複合体の結晶構造解析を行い、GGA を介したトランス・ゴルジ・ネットワーク (TGN) からの輸送小胞形成の分子機構を明らかにしてきた [1]。

GGA の中央にある GAT ドメインは、N-GAT と C-GAT の2つのサブドメインに分けられる。N-GAT は ARF (ADP-ribosylation factor) と相互作用し、GGA の TGN 膜へのリクルートに関与する。一方で C-GAT はユビキチンと結合することが、我々を含めた複数のグループによって 2004 年に報告され、GGA はユビキチン化されたレセプタータンパク質の輸送にも関与することが明らかになりつつある。

我々は GGA3 の C-GAT とユビキチンの複合体の結晶を作製し、PF BL-6A および PF-AR NW12 ビームラインを用いて多波長異常分散法で 2.6 Å 分解能の構造を決定した。C-GAT は 3 本のヘリックスの束からなる。結晶中ではユビキチンの Ile44 残基を中心とする疎水性パッチが、C-GAT のヘリックス $\alpha 1$ と $\alpha 2$ からなる疎水性パッチ (site 1) と相互作用していた。C-GAT は $\alpha 2$ と $\alpha 3$ の面 (site 2) を介して二量体を形成しており (右図)、ユビキチンは結晶中ではこの面には相互作用できないが、種々の変異体でユビキチンとの結合親和性を調べてみると、C-GAT の site 1



と site 2 のいずれにもユビキチンが結合し、その親和性は site 1 の方が高いことが明らかになった。Site 1 の相互作用様式を詳しく見ると、ユビキチンの Ile44 面には3つのポケットがあり、そこに C-GAT の3つの疎水性アミノ酸がそれぞれ収まっていた。特に3番目のポケットは Arg42 の側鎖の向きに2つのモードがあり、それによってユビキチンと C-GAT の相対配置が異なっていた。これまで報告されているユビキチンと他のユビキチン結合タンパク質との相互作用についても、この2つの様式のいずれかに分類できることが分かった。

[1] Nakayama, K. and Wakatsuki, S. (2003) *Cell Struct. Funct.* 28:431-442.