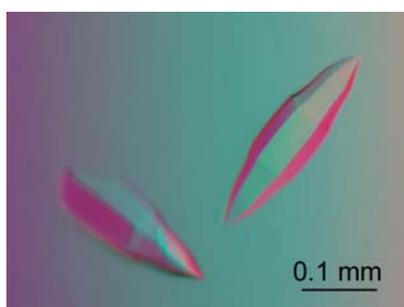


Tollip C2 ドメインの X 線結晶構造解析

- 阿久津誠人^{1,2}, 川崎政人², 加藤洋平³, 加藤龍一^{1,2}, 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)

Tollip(toll interacting protein)は、自然免疫機構の調節に関わる分子量約 30kDa のタンパク質として同定された。N 末端から TBD(Tom1 binding domain)ドメイン、C2(conserved region 2)ドメイン、C 末端の CUE (Coupling of ubiquitin conjugation to ER degradation) ドメインの3つのドメインから構成されている。Tollip と結合するタンパク質である 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、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。Tom1 は、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とされたことから、ユビキチンを介したタンパク質の輸送に関与する可能性が考えられている。Tollip は、ユビキチン結合タンパク質である Tom1 と複合体を形成し、ユビキチン化されたタンパク質のエンドソームへの細胞内輸送に関わっていると考えられている。Tollip の C2ドメインがエンドソーム上に局在するリン脂質と相互作用することにより、Tollip をエンドソーム上へ局在させていると考えられている。そこで膜への局在機構を明らかにするために、Tollip C2 ドメインの結晶構造解析を行ない、リン脂質との相互作用の解明を試みた。

ハンギングドロップ蒸気拡散法により、Tollip C2ドメインの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に成功した。PF-AR NW12A 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 SAD データの収集を行い位相を決定し、2.2 Å 分解能の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。Tollip C2 ドメインは、これまで報告されている他の C2ドメインと同様の 8 本のβ-ストランドにより構成されたβ サンドイッチ構造をしており、II 型のトポロジーに属していた。結晶構造中で、TollipC2 ドメインに陰イオン結合サイトが存在しており、リン脂質の負電荷部分を認識する可能性が考えられた。そこで Tollip C2 ドメインとリン脂質との相互作用を試験管内および細胞内において検討を行った。本シンポジウムでは、結晶構造から考えられた Tollip C2ドメインとリン脂質との相互作用を中心に、Tollip、Tom1 の細胞内における役割について報告する。



Tollip C2ドメインの結晶