

蛋白構造解析ユーザーグループ

Crystal structures of ARA/VPS9

伊原健太郎¹、上島珠美¹、郷達明²、伊藤瑛海²、砂田麻里子²、上田貴志²、中野明彦^{2,3}、若槻壮市¹

¹高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所構造生物学研究センター

²東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

³理化学研究所中央研究所中野生体膜研究室

概要

GTP と結合した低分子量 GTPase はエフェクターと相互作用する活性型であり、自らの GTPase 活性と GTPase 活性促進蛋白質 (GAP) により、エフェクターと相互作用できない不活性型である GDP 結合型へと変換される。低分子量 GTPase の再活性化、つまり GDP の排除と GTP の再導入はグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) が行う。小胞輸送においては低分子量 GTPase である各種 Rab が関与し、エンドサイトーシスの制御には Rab5 が関わる。シロイヌナズナでは Rab5 様分子として ARA6、ARA7、RHA1 という 3 つの低分子量 GTPase が見出されており、我々は ARA6/ARA7/RHA1 とこれらの選択的 GEF である VPS9a の解析を行っている。GEF がどのように GDP を排除し、GTP を導入しているかの詳細は、多数ある GTPase/GEF の結晶構造解析や各種生化学的アッセイにも関わらず不明な点が多い。我々は始めにヌクレオチドフリーの ARA7/VPS9a 複合体の結晶構造解析を行ったが、その後ヌクレオチドが含まれた ARA7-GDPNH₂/VPS9a、ARA7-GDP/VPS9a、そして ARA7-GDP/VPS9a_D185N 変異体の解析が進み、GEF 反応には幾つかの安定な中間体が存在する可能性を示している。これらヌクレオチド含有中間体に共通の興味深い点は、VPS9a は ARA7 だけでなく、排除すべき GDP も認識しているというものである。最近、ARA6 でも同様のヌクレオチド含有 VPS9a 複合体構造が得られており、GEF による GDP の認識が、GEF 機能に何らかの意味を持つのかもかもしれない。一つの可能性として、GDP の再結合により複合体が解離するのを防ぎ、目的の基質である GTP が導入されたときのみ複合体が解離する仕組みが考えられる。各種存在する GEF に、一般的に単独では非常に不安定なヌクレオチドフリー型 GTPase を安定化させるという共通認識があるが、新たにヌクレオチドに対する選択性を持つ可能性を示す。