

脱ユビキチン化酵素 AMSH-LP の結晶構造解析

吉川梓^{1,2}, 佐藤裕介^{1,2}, 山形敦史¹, 三村久敏¹, 山下雅美^{1,3}

大方香代子², 濡木理², 岩井一宏⁴, 駒田雅之², 深井周也^{1,4}

(¹東大・放射光, ²東工大・生命理工, ³東大・メディカルゲノム, ⁴阪大・医学)

ユビキチン (Ub) は 76 残基からなるタンパク質で, 標的タンパク質のリジン残基とイソペプチド結合を介して結合することでタンパク質の機能を制御する. また, 結合した Ub のリジン残基に更に Ub が付加して形成されるポリ Ub 鎖によって標的タンパク質の機能を制御することも多く, この場合どのリジン残基を用いてポリ Ub 鎖を形成するかでその役割は異なる. 例えば, 活性化された EGFR は細胞内へ増殖シグナルを発するとともに, K63 結合型のポリ Ub 鎖修飾を受け, エンドサイトーシスにより速やかに細胞内へと取り込まれる. 取り込まれた EGFR はエンドソームにおいて選別を受けリソソームに運ばれ分解を受けるが, このとき K63 結合型ポリ Ub 鎖がリソソームへの選別輸送シグナルとして機能している. AMSH ファミリーは亜鉛依存性プロテアーゼである JAMM に属する脱ユビキチン化酵素 (DUB) で, K63 結合型のポリ Ub 鎖を特異的に切断する活性を持ち, K63 結合型ポリ Ub 鎖修飾を受けた受容体からポリ Ub 鎖を除去することで受容体の細胞表面へのリサイクルを促進する.

今回我々は, AMSH ファミリーによる K63 結合型ポリ Ub 鎖の認識, および切断活性の機構を明らかにするために, ヒト由来 AMSH-LP の DUB ドメイン (264-436 残基の領域) の X 線結晶構造解析を行い, 1.2 Å 分解能での構造決定に成功した (図.1). 得られた結晶構造を, すでに構造が決定されていた DUB 活性を持たない古細菌由来の JAMM と比較すると, 活性中心を持つ JAMM コア領域のフォールドは非常に良く似ているものの AMSH-LP の JAMM コア領域には AMSH ファミリーに保存された特徴的な 2 箇所 of 挿入領域が存在していることが明らかとなり, それぞれ Ins-1 (314-339 残基の領域), Ins-2 (393-415 残基の領域) と名づけた. また, 活性中心だけではなく Ins-2 も亜鉛を配位していることを明らかにした.

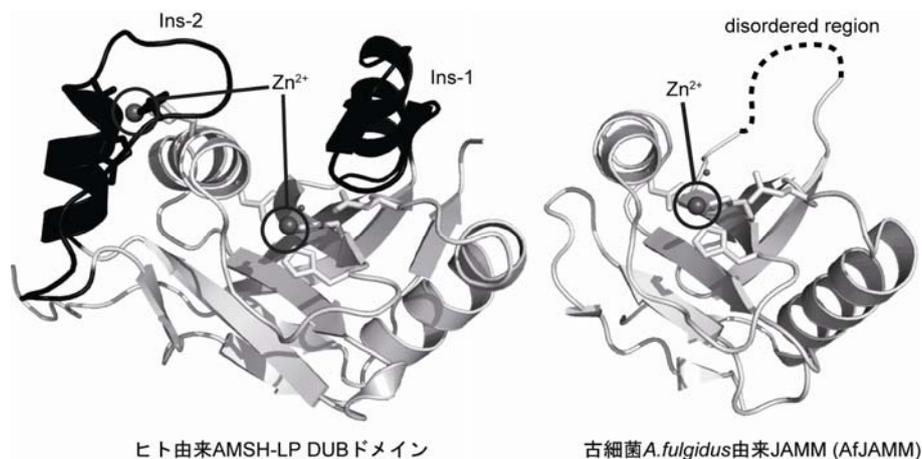


図.1 AMSH-LP と AfJAMM の結晶構造の比較