

「タンパク質結晶構造解析」

高度好熱菌由来コシャペロン GrpE による DnaK システム温度センサー機能の構造的基盤

中村 顕¹, 内匠浩平¹, 三木邦夫^{1,2}

¹京大・院理・化学, ²理研播磨/SPring-8

HSP70 はほぼ全ての生物に保存された分子シャペロンであり, 新生ポリペプチドや変性タンパク質の疎水性領域と相互作用することで, これらの凝集を抑制する機能を持つ. ATPase 活性を有する HSP70 はコシャペロンである HSP40 およびヌクレオチド交換因子(NEF)と協同的に働き, 分子シャペロンとしての機能を効果的に発現する. 原核生物における HSP70, HSP40, NEF はそれぞれ DnaK, DnaJ, GrpE と呼ばれ, DnaK 分子シャペロンシステムを構成している.

GrpE は DnaK システムにおけるヌクレオチド交換反応を担う他, 温度依存的な構造遷移点を有することで温度センサーとしても機能する. すなわち熱変性温度以上で不活性化した GrpE は DnaK と結合できず, DnaK 基質が熱変性環境から保護された状態で維持される. 本研究では立体構造既知の大腸菌 GrpE (GrpE_{Eco}) と並び研究が進められている *Thermus thermophilus* HB8 由来の GrpE (GrpE_{Th}) を構造解析の対象とした. GrpE_{Th} の構造遷移点は GrpE_{Eco} よりも高温領域にあることが特徴である. 精製 GrpE_{Th} を結晶化し, SAD 法により初期位相を決定した後, 3.23 Å 分解能での結晶構造を精密化した. GrpE_{Th} の全体構造は GrpE_{Eco} と同様に long α -helix, four-helix bundle, β -sheet ドメインから構成されていた. また, プロテアーゼ限定分解実験の結果から, 熱変性環境下では主に DnaK との相互作用に関わる β -sheet ドメインにおいて立体構造のアンフォールドが生じることが明らかとなり, このことが GrpE_{Th} の温度センサー機能に重要な役割を果たすことが示唆された.