

## penta-EF hand 蛋白質 ALG-2 と Alix ペプチド複合体の X 線結晶構造解析

鈴木博紀<sup>1</sup>、川崎政人<sup>2</sup>、犬塚達俊<sup>1</sup>、垣内武志<sup>1</sup>、柴田秀樹<sup>1</sup>、若槻壮市<sup>2</sup>、牧正敏<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名古屋大学大学院生命農学研究科、<sup>2</sup>PF 構造生物学研究センター)

ALG-2 (apoptosis linked gene-2)は、カルシウム結合モチーフである EF-hand を 5 つ持つ PEF (Penta-EF-hand) family 蛋白質であり、5 番目の EF-hand を介してダイマーを形成する。カルシウム結合型の ALG-2 は、エンドソーム輸送や HIV ウイルスの出芽に関わる蛋白質である Alix や TSG101 と結合する。これらの ALG-2 結合蛋白質はプロリンとチロシンに富んだペプチド配列を介して ALG-2 と相互作用する。その認識機構の分子基盤を明らかにするため、ALG-2 単体ならびに Alix ペプチドとの複合体の X 線結晶構造解析を行った。Photon Factory BL-5A, 6A, 17A において X 線回折データ測定を行い、カルシウム遊離型、カルシウム結合型、亜鉛結合型の 3 種類の ALG-2 単体の結晶構造を得た。Alix ペプチドとの複合体については、カルシウム結合型では結晶は得られなかったものの、亜鉛結合型で結晶が得られ、2.2 Å 分解能での構造解析に成功した。ALG-2 のダイマー 2 分子はそれぞれ独立に Alix ペプチドを結合していた。ALG-2 の分子表面には 2 つのポケットが存在し、1 番目のポケットが Alix ペプチドの PPYP 配列を特異的に認識していた。一方 2 番目のポケットは PPYP 配列の下流にある YP 配列を認識していたが、ダイマー 2 分子の間で認識方法に違いが見られた。立体構造を基に作成したアミノ酸変異体の生化学的解析結果は、結晶構造解析の結果とほぼ一致し、相互作用に重要な残基が明らかとなった。さらに、ALG-2 単体の構造との比較から、ALG-2 のカルシウムに依存した Alix ペプチド結合のモデルを提唱した。

## 文献

1. Suzuki, H., Kawasaki, M., Inuzuka, T., Okumura, M., Kakiuchi, T., Shibata, H., Wakatsuki, S. & Maki, M. (2008) Structural Basis for Ca<sup>2+</sup>-dependent Formation of ALG-2/Alix Peptide Complex: Ca<sup>2+</sup>/EF3-driven Arginine Switch Mechanism. *Structure* 16, 1562-1573.
2. Suzuki, H., Kawasaki, M., Kakiuchi, T., Shibata, H., Wakatsuki, S. & Maki, M. (2008) Crystallization and X-ray diffraction analysis of N-terminally truncated human ALG-2. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 64, 974-977.
3. Suzuki, H., Kawasaki, M., Inuzuka, T., Okumura, M., Kakiuchi, T., Shibata, H., Wakatsuki, S. & Maki, M. (2009) The mechanism of Ca<sup>2+</sup>-dependent recognition of Alix by ALG-2: insights from X-ray crystal structures. *Biochem. Soc. Trans.* 37, 190-194.