

蛋白構造解析ユーザーグループ

ヌクレオチド交換過程における植物 Rab5/Vps9 複合体の結晶構造解析

上島珠美¹、伊原健太郎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学専攻

³理化学研究所基幹研究所中野生体膜研究室

概要

低分子量GTPaseは自らのGTPase活性でGTP結合型からGDP結合型へと変換されるが、逆の変換にはグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)が必要である。GEFは一般的にヌクレオチドフリー型の低分子量GTPaseと強い親和性を有することを利用し、低分子量GTPaseに強固に結合したGDPを解離させ、細胞質内により高濃度で存在するGTPの導入を助けると考えられている。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。これまでGEFの結晶構造解析は、ヌクレオチドフリー型低分子量GTPaseとの複合体として行われることが多かったが、我々は安定に導入することが難しいと考えられていた各種ヌクレオチド結合型のGTPase/GEF複合体結晶構造解析を行ったので報告する。シロイヌナズナではRab5様分子としてARA6、ARA7、RHA1の3つ、及びこれらの選択的GEFであるVPS9aが知られている。このうちARA6/ARA7に関して、ヌクレオチドフリー型、及びGDP、GDPNH₂、又はGDPβSが含まれた状態で、11種類のVPS9aとの複合体結晶構造が得られている。これらの構造は、GTPaseとGEFの相対的位置から4つのグループに分けることができ、GDPの解離直前からGTP導入直前までに安定に存在しうる中間状態を反映しているものと考えている。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。GEFによるGDPの認識は、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が、今までにGDP/GTP交換に方向性があるというデータは発表されていない。GDP/GTP交換の一方向性を示すデータが蛍光ラベルされたGTPアナログの結合実験から示されつつあるので紹介する。