

## X線およびNMRによる 幼若ホルモン結合タンパク質の立体構造解析

○鈴木倫太郎, 藤本瑞, 土屋渉, 塩月孝博, 門間充, 多勢祥, 山崎俊正  
農業生物資源研究所

幼若ホルモン(JH)は昆虫の生活環の制御に関わる重要なホルモンである。アラタ体で生合成され血リンパに分泌された JH は、高親和性の JH 結合タンパク質(hJHBP, 25 kDa)と結合し、標的細胞まで運搬される。鱗翅目の血リンパでは JH の 99%以上が hJHBP と結合した形で存在する。今回我々はカイコ hJHBP および hJHBP-JH III 複合体の立体構造を明らかにしたので報告する。

hJHBP 単体については結晶構造解析により解像度 2.6 Å 分解能の構造を得ることができたが、hJHBP-JH III 複合体については結晶化はするものの、解析が困難であった。一方、hJHBP 単体の NMR スペクトルは複合体のスペクトルに比べてピークが 4 割ほど少なく、単体での解析はできなかったが、複合体の解析は可能であった。

得られた hJHBP の結晶構造および hJHBP-JH III 複合体の溶液構造はほぼ同じであり、筒状のβシートが長いαヘリックスに巻きつく形になっていた。筒状の分子の両端にはそれぞれ短いヘリックスが存在し、またどちらにもポケット様の表面が見られた。結晶構造では結晶化試薬の MPD がこれらのポケットに 1 分子ずつ結合していた。一方、溶液構造では JH III は片方のポケットに、分子内部に埋もれた形で結合していた。この結合ポケットは疎水性が高かったが、hJHBP-JH III 間の水素結合も 2 箇所で見られた。部位特異的変異体の結合活性測定により、水素結合に関与する残基と JH III のエポキシ基周辺の疎水性残基は結合に対する寄与が大きいことが明らかになった。なお、JH とタンパク質の相互作用を示す立体構造としてはこの構造が初めてのものである。

溶液構造では JH III 分子が MPD よりも大きいことに対応して結合ポケットも大きくなっており、これを取り巻くβシート部分が結晶構造とくらべて外側に広がる形になっていた。この構造の違いはそれほど大きくはないものの、βシート上で温度因子の高低の境目となる部分を蝶番とする開閉として解釈することができた。また、この境目は単体の NMR スペクトルで観測できる部分と観測できない部分の境目と一致していた。これらの結果から結合部位周辺は溶液中の hJHBP 単体では運動性が高く、おそらく結晶構造に似た閉じた構造と JH の結合が可能より大きく開いた構造を含む複数の状態間で、ミリ秒からマイクロ秒スケールでの揺らぎがあるものと考えられる。