

# ヒト由来分子シャペロン Prefoldin の結晶学的研究 Crystallographic study of molecular chaperone Prefoldin from *Homo sapiens*

相川 佳紀、木田 宗志、西谷 優一、三木 邦夫(京大・院理)

Prefoldin (PFD) は Group II 型シャペロニンと共役して働く分子シャペロンの一種で、折り畳み中間状態のタンパク質を捕らえ、シャペロニンに受け渡すことにより折り畳みを促進する。これまでに数種類の古細菌由来 PFD の結晶構造が明らかになっており、また種々の生化学的研究から、PFD が持つ特有の疎水性領域と、折り畳み中間状態にあるタンパク質表面に露出した疎水性領域とが相互作用し、凝集を防ぐという作用機構が提唱されている。一方真核生物由来 PFD については、古細菌由来 PFD と比べて生化学的研究の報告は少なく、結晶構造も明らかになっていない。その理由として、真核生物由来 PFD は古細菌由来 PFD と違い、互いに異なる 6 つのサブユニットで構成されており、結晶構造解析に適した高純度かつ大量の試料調製が難しいことが挙げられる。しかし、真核生物由来 PFD には細胞骨格を形成するアクチンやチューブリンに特異的に結合し、その正しい折り畳みを助けるという細胞の恒常性維持に必須の働きがあるため、真核生物由来 PFD の構造及び作用機構を明らかにすることは非常に重要である。そこで我々は、ヒト由来 Prefoldin (HsPFD) の X 線結晶構造解析に取り組んだ。

HsPFD 各サブユニットの大腸菌を用いた発現系を構築した。発現条件及び破碎条件を検討し、全てのサブユニットを可溶化することに成功した。その後、His タグアフィニティーカラム、陽イオン交換カラム、ゲル濾過カラムを用いて精製を行った。マススペクトル測定及び Native PAGE の結果から、精製サンプルは 6 つのサブユニットを全て含み、かつ均一な化学量論的会合状態を持つことが示唆された。精製サンプルを用いて結晶化スクリーニングを行い、PEG3350 を沈殿剤とする条件で結晶を得た。得られた結晶を用いて放射光施設にて X 線回折実験を行い、最大 6.25Å 分解能のデータセットを得た。空間群は  $P2_12_12$  で、非対称単位中に HsPFD が 2 分子 ( $V_M=2.7\text{\AA}^3/\text{Da}$ ) 存在すると予想された。