

# 細胞膜貫通性をもつニューログロビンの構造研究

## Structural study on membrane-penetrating neuroglobins

三角将輝<sup>1,2</sup>、若杉桂輔<sup>2</sup>、栗栖源嗣<sup>1</sup>

1 大阪大学・蛋白質研究所 2 東大院・総合文化

ニューログロビン(Ngb)は、グロビンファミリーに属する近年発見された新しいグロビンタンパク質である。その機能は、同じグロビンファミリーに属するヘモグロビンやミオグロビンとは大きく異なっており、脊椎動物の脳・神経系で機能し、ヒトでは三量体Gタンパク質の $\alpha$ サブユニットに結合して、細胞内シグナル伝達に関与することが知られている。また、ゼブラフィッシュに存在するニューログロビン(ZNgb)は、細胞内シグナル伝達には関わらないものの、Ngb自身が細胞膜を貫通するという非常にユニークな特徴をもつことが報告されている。本研究では、ZNgbがもつ細胞膜を貫通する特性に着目し、細胞膜貫通性をもつNgbと細胞膜貫通性をもたないNgbの構造を比較することで、細胞膜貫通性に関する機能-構造相関について知見を得ることを目的とした。

Ngbは4つのモジュールから構成されているが、このうちZNgbのM1モジュールが細胞膜貫通性に関与していることが判明している。そこで、ヒト由来NgbのM1モジュールをZNgbのM1モジュールに置換したキメラNgb(CNgb)を作成し、その細胞膜貫通特性を調べたところ、CNgbもZNgbと同様に細胞膜貫通性を持ち、さらには細胞内シグナル伝達にも関与することが明らかになった(Wakasugi *et al.*, 2005)。そこで、細胞膜貫通性をもつZNgbとCNgbの両方を構造研究に用いた。

ZNgbについては、大腸菌を用いた発現系で組換え体を大量に調製し、精製、結晶化に用いた。得られた結晶をもちいて、KEK PFのBL-17Aにおいて2.6 Å分解能の回折強度データを収集した。分子置換法では位相決定には至らなかったため、現在Fe-SAD法による位相決定を試みている。CNgbについても同様に、組換え体を大量に調整し、精製、結晶化をおこなった。得られた結晶を用いてBL-17Aで回折強度データを収集し、分子置換法により1.8 Å分解能で構造を決定した。CNgbは、非対称単位中でダイマー構造を形成していた。CNgbと細胞膜貫通性を示さないヒトNgbの構造を比較検討した結果、M1モジュール以外には大きな構造の違いはみられなかった。しかしながら、M1モジュールに存在するループ構造は、CNgbのほうが長いことが判明した。現在このループ構造が細胞膜貫通性に重要な構造的特徴であると考え、議論を進めている。