

VPS9a は二価金属を認識する VPS9a recognizes divalent metal

上島珠美¹、伊原健太郎¹、砂田麻里子²、伊藤瑛海²、
上田貴志²、中野明彦^{2,3}、若槻壮市¹

¹高エネ機構物構研構造生物、²東大院理発生生物、³理研中野生体膜

グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)は、低分子量GTPaseに対する Mg^{2+} とGDPの結合を不安定化することでヌクレオチド交換反応を促進する。一般的に低分子量GTPaseは、活性型であるGTP結合型で標的タンパク質(エフェクター)と結合し、自らのGTPase活性とGTPase活性化タンパク質(GAP)の助けにより、GTPがGDPに加水分解されてGDP結合型となると、エフェクターに結合できない不活性型となる分子スイッチである。不活性型低分子量GTPaseを活性型に変換するには、結合したGDPを除去し、新たにGTPを導入する必要があるが、GDPはGTPase活性に必要な Mg^{2+} と共に強く低分子量GTPaseに結合しており、自然なヌクレオチド交換反応は著しく遅いため、迅速な交換にはGEFが必要とされる。GEFは除去すべき Mg^{2+} とGDPを認識、又はこれらのGTPaseに対する結合と競合すると考えられるが、機構の詳細は不明である。

植物(シロイヌナズナ)由来の Rab5 様低分子量 GTPase ARA7 と、その GEF である VPS9a、及び GDP の三者複合体結晶構造において、VPS9a が ARA7 に結合した GDP を認識する中間体の存在を我々は以前示した。VPS9a には Rab5 選択的 GEF である Vps9 ドメインが存在するが、Vps9 ドメインに保存されるアスパラギン酸(Asp フィンガー)が GEF 反応に重要であることが知られている。当初は Asp フィンガーと GDP の負電荷同士が反発して GDP が除去される可能性が考えられたが、我々の構造から、Asp フィンガーが水素化した GDP と水素結合する可能性が示された。これでは GDP 結合を逆に安定化してしまうように見えるが、Asp フィンガーは GTPase の P-loop に保存される GDP 認識に必須のリジンが GDP から奪うことにより、競合的に GDP の結合を不安定化させる機構を提唱している。Asp フィンガーによる GDP の一過的な認識は、基質特異性を考えても合理的と思われる。

では、GDP認識以前に行なわれているであろう Mg^{2+} 除去はどのように行なわれるのか？本来の Mg^{2+} 結合部位に Ca^{2+} が結合したARA7-GDP- Ca^{2+} /VPS9a 四者複合体の結晶構造解析を行ない、 Ca^{2+} がARA7 とVPS9a双方に強固に配位している中間体を明らかにしたので、今回報告する。この中間体は、GDP除去に先立ち、VPS9aが Mg^{2+} を認識する可能性を示すものである。VPS9aによる Mg^{2+} 認識が、どのように Mg^{2+} 結合を不安定化するのか議論したい。