

好熱好酸性古細菌由来小型熱ショックタンパク質の 構造生物学的研究

Structural biology of small heat shock protein from *Sulfolobus tokodaii*

花園祐矢¹、竹田一旗¹、養王田正文²、三木邦夫¹

1 京大院理、2 農工大院工

分子シャペロン的一种である小型熱ショックタンパク質(sHsp)は、様々な生物種に普遍的に存在し、タンパク質の熱凝集を防ぐ働きを持つ。非ストレス下では種固有の多量体構造(12-40 量体)を形成しているが、熱ストレス下では多量体の一部が解離し、非ストレス下とは異なる多量体を形成することで変性タンパク質と相互作用する。我々は、好熱好酸性古細菌 *Sulfolobus tokodaii* 由来の sHsp である StHsp14.0 を研究対象として、機能と構造に関する研究を行ってきた。これまでに、多量体形成に関与する C 末領域の IXI/V モチーフに変異を導入した変異体(FKF 変異体)を用いて、二量体を構成単位とする結晶構造を明らかにしている。しかし、隣接する分子の C 末領域が多量体形成部位と相互作用しており、解離状態の二量体構造とは異なる可能性がある。

今回、四次構造変化の詳細を明らかにするため、野生型 StHsp14.0、IXI/V モチーフを含む C 末領域 8 残基を削除した(Δ C8 変異体)、および Δ C8 変異体と C 末領域ペプチド(VIKIE)の複合体構造を明らかにした。野生型は PEG2000MME を、 Δ C8 変異体およびペプチド複合体は PEG8000 を主な沈殿剤とする条件で結晶が得られた。空間群は野生型が $I4$ ($a=b=117.63$ Å、 $c=115.21$ Å)、 Δ C8 変異体が $P2_12_12_1$ ($a=45.07$ Å、 $b=56.94$ Å、 $c=78.85$ Å)、ペプチド複合体が $C222_1$ ($a=156.30$ Å、 $b=161.90$ Å、 $c=162.27$ Å)であった。分子置換法による位相決定後に構造精密化を行い、 $R_{\text{work}}/R_{\text{free}}$ は野生型で 32.6%/39.4%(4.5 Å)、 Δ C8 変異体で 19.8%/25.4%(1.9 Å)、ペプチド複合体で 24.0%/25.7%(2.55 Å)となった。

野生型の構造は、八面体対称(点群 432)を持つ球殻を形成していることが分かった。これは、超好熱性古細菌 *Methanocaldococcus jannaschii* 由来 sHsp (MjHsp16.5)に見られた四次構造と同じであるが、小麦 *Triticum aestivum* 由来 sHsp (TaHsp16.9)や α クリスタリンとは異なる四次構造であった。

また、 Δ C8 変異体と複合体の構造を比較すると、C 末領域に接触しているストランドおよびループが変化していた。C 末領域は主に、疎水性相互作用によって隣の分子と相互作用しており、 Δ C8 変異体では疎水性表面が露出しないようにストランドおよびループが動いている。これは熱ストレス下で二量体が解離する時の構造変化を示していると考えられる。