



プロテアソーム形成に関わるタンパク質の X 線結晶構造解析

佐藤匡史¹、加藤晃一^{1,2}

1 名古屋市立大学, 大学院薬学研究科、2 岡崎統合バイオサイエンスセンター

1. 背景と研究目的

プロテアソームは生命現象の様々な局面で重要な役割を演じており、創薬標的としても注目されている。最近の研究により、真核生物のプロテアソームの 4 次構造形成は自発的な自己組織化ではなく、サブユニット集合を介助する複数の特異的シャペロン分子が関与する極めて複雑なプロセスであることが明らかにされつつある。本研究は、プロテアソームの構造形成がサブユニット集合を介助する一連のシャペロンの関与のもとで進行するプロセスであることに注目し、そのメカニズムを解明することを目指す。特に、これまで捉えることが困難であったプロテアソームの形成中間体を同定し、それらの 3 次元構造を解明することを目的とする。本実験では、プロテアソームの α サブユニットから形成されるヘテロ 14 量体の立体構造解析を目指した。

2. 実験内容

ヒト由来の $\alpha 4/\alpha 7$ および $\alpha 6/\alpha 7$ 複合体の調製は大腸菌による共発現系を用いて行った。 $\alpha 4/\alpha 7$ 複合体および $\alpha 6/\alpha 7$ 複合体の結晶は、PEG400 および 2-methyl-2,4-pentanediol を沈殿化剤とするシッティングドロップおよびハンギングドロップ蒸気拡散法により作成した。得られた結晶の X 線回折強度データは、BL2S1 ビームライン ($\lambda = 1.1200 \text{ \AA}$) を用いて収集した。

3. 結果および考察

X 線回折実験の結果、 $\alpha 4/\alpha 7$ および $\alpha 6/\alpha 7$ 複合体において $7\text{-}8\text{\AA}$ の分解能の回折強度データを収集することができた。結晶は正方晶系でそれぞれ空間群 $P4_2$ および $P4_32_12$ に属し、格子定数は $a=133.5$, $b=133.5$, $c=224.8 \text{ \AA}$ および $a=132.5$, $b=132.5$, $c=444.6 \text{ \AA}$ であった。得られた回折強度データを用いて、 $\alpha 7$ のホモ 14 量体の結晶構造 (PDB code: 5DSV) をサーチモデルとした分子置換法により初期位相の決定を試みた。その結果、両者の複合体において $R_{\text{work}}=25\%$, $R_{\text{free}}=30\%$ 程度の精度で、立体構造を決定することが出来た。

本実験では、あいちシンクロトロン BL2S1 ビームラインを用いることによって、プロテアソーム形成中間体と推測される $\alpha 6/\alpha 7$ および $\alpha 4/\alpha 7$ ヘテロ 14 量体の結晶による X 線回折能の迅速なスクリーニングおよびデータ収集を行うことが出来た。今後は、結晶化条件の最適化、重原子同型置換体結晶の作製、セレノメチオニン置換体結晶の作製、およびそれらの結晶のシンクロトロン回折データ収集を通じて、各サブユニット位置の同定および高分解能での立体構造決定を行う必要がある。

4. 参考文献

該当なし