



アシネトバクター由来高付着性 三量体オートトランスポーター タンパク質の結晶解析

鈴木淳巨¹, 吉本将悟¹, 堀克敏¹

1 名古屋大学大学院工学研究科 生命分子工学専攻

キーワード : 三量体オートトランスポーター, AtaA, メチル化, 結晶構造

1. 背景と研究目的

細菌 *Acinetobacter* Sp. Tol5 は、AtaA と呼ばれる接着タンパク質を細胞表層に持っており、プラスチック、ガラス、金属等の様々な物質の表面に強く接着する。AtaA の接着機能は、N 末端の接着ドメインにあるが、このドメインを大腸菌で発現しても、本来の強い接着力が得られなかった。原因として、Tol5 では起こるリジン側鎖の N メチル化や糖鎖修飾などの翻訳後修飾が大腸菌では起きないことが考えられる。そこで、Tol5 由来のリジン N メチル化酵素を大腸菌での発現時に共発現させてリジンのメチル化を行い、得られた接着ドメインの結晶解析を行って、メチル化が構造に及ぼす影響を調べた。

2. 実験内容

接着ドメイン (残基番号 59~325) と Tol5 由来のリジンメチル化酵素を大腸菌で共発現し、リジンがメチル化された接着ドメインを得た。クロマトグラフィーにより精製した後、市販のスクリーニングキットを使って結晶化を行い、ビームライン BL2S1 において 100K の窒素気流下で、波長 1.12 Å の放射光 X 線を使い、回折データの収集を行った。回折データの処理には、XDC と CCP4 の aimless を用いた。構造解析は、分子置換法で行い、得られたモデルは、CCP4 の refmac で精密化した。

3. 結果および考察

今回のメチル化接着ドメインの結晶の回折分解能は、1.5 Åであり、既知の非メチル化接着ドメインの 2.0 Åから大きく向上した。今回の結晶の空間群や格子定数は、非メチル化接着ドメインのもの (P212121, a = 76.7 Å, b = 110.2 Å, c = 128.2 Å) とは完全に異なっていた。しかしながら、今回のメチル化接着ドメインと既知の非メチル化接着ドメインの α 炭素間の根二乗偏差は、0.41 Åと小さく、リジンのメチル化は接着ドメインの構造に、ほとんど影響を与えないことが明らかとなった。また、非メチル化接着ドメインの結晶では、一部のリジン残基が結晶中でのタンパク質分子のパッキングに関わっていたが、今回の結晶では、メチル化されたリジン残基は、どれも隣接分子との相互作用に関わっていないことが明らかになった。このことから、リジンのメチル化が分子間相互作用を変え、これが結晶の空間群の違いを生み、さらには分解能の向上に結び付いたものと考えられる。化学修飾によるリジン側鎖のメチル化は、結晶化しにくいタンパク質の結晶化を促すという報告がある¹。今回のメチル化は酵素反応によるものであり化学修飾とは異なるが、リジンのメチル化がタンパク質の結晶の品質 (分解能) 向上に役立った 1 つの例と言えるであろう。

表 1 回折データの統計値

Space Group	C2
Cell parameters	
a (Å)	125.1
b (Å)	72.3
c (Å)	110.4
β (°)	110.5
Resolution range (Å)	50-1.5 (1.53-1.50)
Total reflections	1,064,068 (52,089)
Unique reflections	147,342 (7,232)
Completeness (%)	100.0 (100.0)
Redundancy	7.2 (7.2)
I/ σ (I)	14.6 (4.5)
Rmerge (%)	7.3 (35.8)

4. 参考文献

1. Structure (2006) 14(11), 1617-1622