

Thermus thermophilus HB8 タンパク質の機能発見研究：
機能未知タンパク質 Universal Stress Protein の X 線結晶構造解析
Functional identification of protein from *Thermus thermophilus* HB8:

Crystal structure analysis of universal stress protein

飯野均¹, 海老原章郎¹, 上利佳弘¹, 広津建¹, 倉光成紀^{1,2}

Hitoshi Iino¹, Akio Ebihara¹, Yoshihiro Agari¹, Ken Hirotsu¹, Seiki Kuramitsu^{1,2}

(¹ 理研・播磨研, ² 阪大・院理)

(¹RIKEN SPring-8 Center, ²Osaka Univ.)

e-mail: iino-h@spring8.or.jp

Universal stress protein superfamily (Usp) [Pfam PF00582] は、130-160 アミノ酸残基の Usp ドメインを含む機能未知タンパク質で、真核生物・バクテリア・アーキアに広く保存されている。Usp は熱・栄養飢餓・抗生物質・紫外線などの多様な細胞ストレスによって発現誘導され、更に Usp 遺伝子破壊株ではこれらのストレスに対する耐性が低くなることが知られている。そのため、細胞内ストレス応答システムにおいて、なんらかの普遍的な役割を担っていると考えられているが、その役割はほとんど分かっていない。

高度好熱菌 *T. thermophilus* HB8 は遺伝子数が少なく、基本的生命現象が進化の過程で濃縮されている。更にタンパク質が安定で立体構造解析や機能解析に適しており、モデル生物に適した特徴を持っている。その *T. thermophilus* HB8 には 5 種類の Usp (TTHA0045, TTHA0192, TTHA0295, TTHA0350, TTHA0895) が存在することが、ゲノム解析から明らかとなっている (下図参照)。そこで、これらの立体構造を明らかにするとともに、Usp が関与する細胞内ストレス応答システムを解明することを目指した。

Usp の 1 つである TTHA0895 は、137 アミノ酸残基、約 15 kDa で、ATP 結合サイトを持つドメイン 1 つから成る。ATP 非存在下と ATP 存在下のそれぞれの条件において X 線結晶構造解析を試みたところ、2 Form の立体構造を明らかにすることができた。Form I は ATP 非結合型の 2 量体、Form II は ATP と Mg イオン結合型の 4 量体であった。

Form II において、結合した ATP と Mg イオンはサブユニット会合面に位置しており、その周辺の構造は Form I と異なっていた。これらのことから、ATP 存在が、2 量体である Form I から 4 量体である Form II への変化を引き起こす要因となっている可能性が示唆された。

そこで、溶液中の会合状態を知るため、動的光散乱法による測定を行ったところ、ATP 添加前では 4-5 量体と推定される多分散、ATP 添加後では 3-4 量体と推定される単分散の状態が観察された。このことから、ATP 添加前ではランダムな会合状態だったものが、ATP が添加されることにより、単一の 4 量体構造 (Form II) になると考えられる。

また、等温滴定量熱量計により、TTHA0895 と ATP の結合以外に由来すると思われるエネルギー変化を捉えた。これは Form I から Form II へのコンフォメーション変化に由来するものと考えられる。

これらの他、TTHA0895 の ATP 加水分解活性、mRNA (マイクロアレイ) 解析による、細胞の対数増殖期から静止期における発現量の経時変化について述べる。

