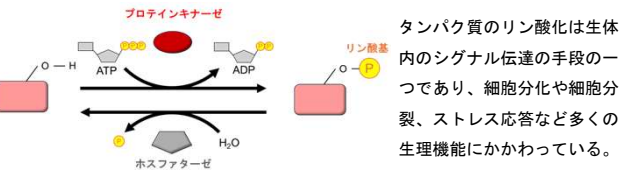


細菌特有のプロテインキナーゼの構造機能解析

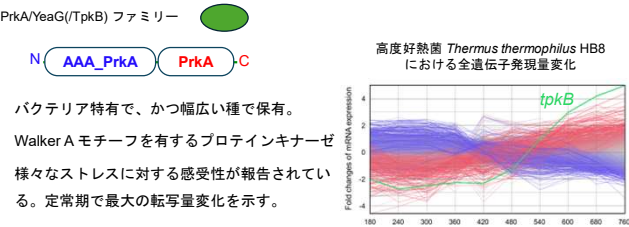
理学研究科 生物学専攻 生体分子機能学研究室
鳥井雅之

イントロダクション

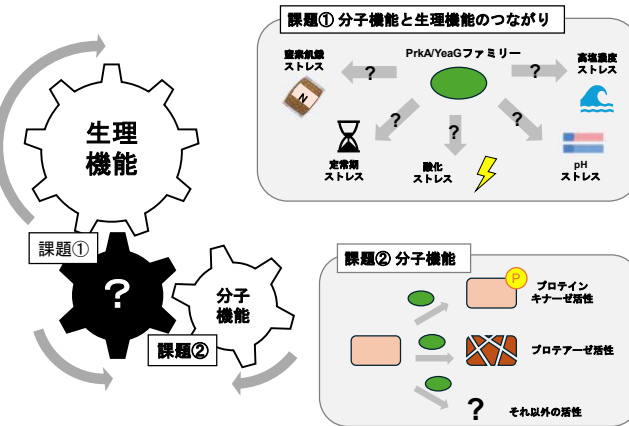
タンパク質のリン酸化



“非定型”なプロテインキナーゼ PrkA/YeaG/(TpkB) family



同ファミリータンパク質の研究課題



本研究では、上記課題のうち「課題②」について、立体構造解析と生化学解析の両側面から研究を行い、同ファミリーの機能を突き止めることを研究目的とした。

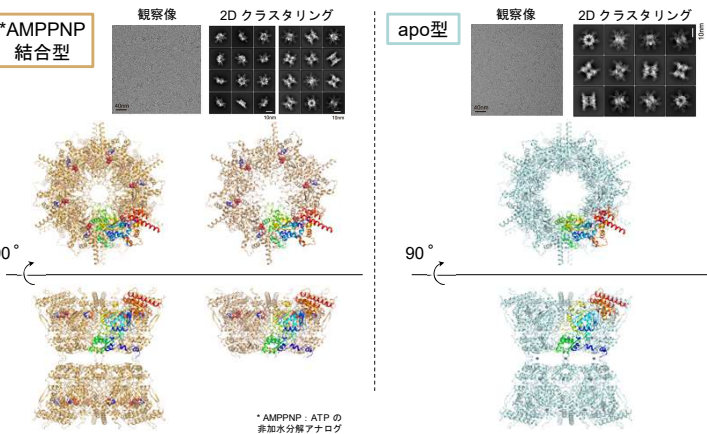
参考文献

[1] Figueira, et al., (2015) *Scientific Reports* **5** (December): 17524.
[2] Liu, et al., Xiaodong, Yantao Luo, Zhefei Li, and Gehong Wei. (2016) *BMC Microbiology* **16** (1): 227.
[3] Sysoeva, et al., (2013) *Genes & Development* **27** (22): 2500–2511.
[4] Holm, et al., (2023) *Protein Science* **32** (1): e4519.
[5] Tsai, et al., (2020) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **117** (1): 381–87.
[6] Abramson, et al., (2024) *Nature* **630** (8016): 493–500.

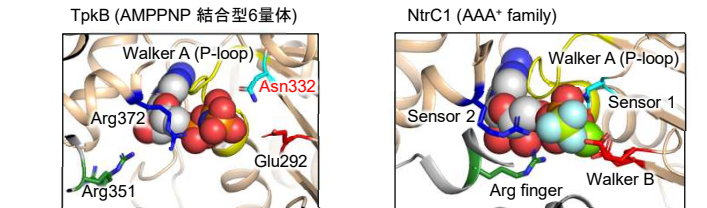
結果と考察

クライオ電子顕微鏡による単粒子解析

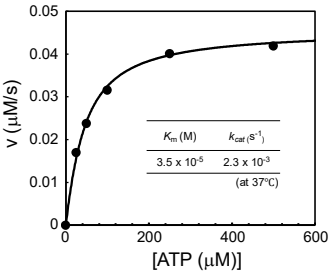
リコンビナントタンパク質として発現・精製した TpkB について、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析を行った。



ANPPNP 周辺の保存残基

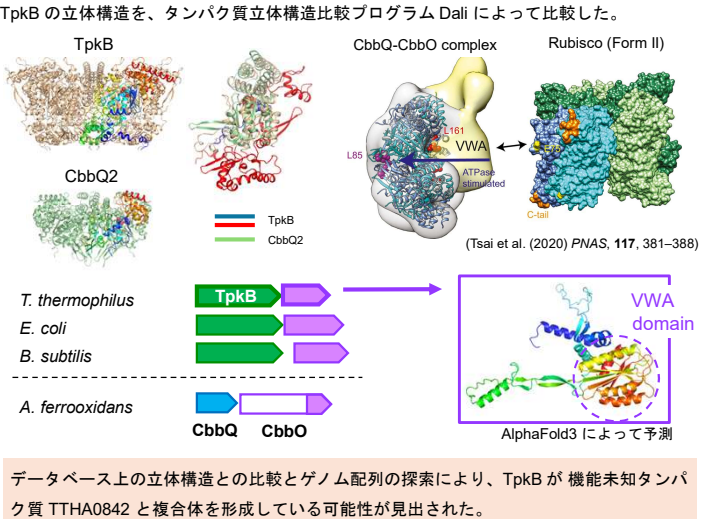


ATPase 活性



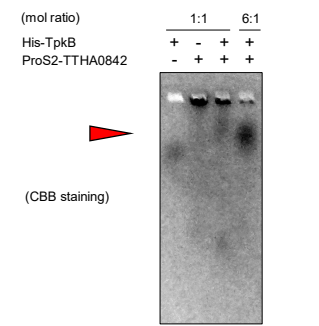
・ TpkB は特徴的な6量体リングを形成しており、ATP加水分解活性を有するタンパク質に特有なアミノ酸残基の配置をしていた。
・ ATP加水分解活性を有していた。
・ 上記から TpkB が AAA⁺ (ATPases associated with diverse cellular activities) スーパーファミリーと呼ばれる一群に属することが明らかになった。

TpkB の分子機能の推定



相互作用実験

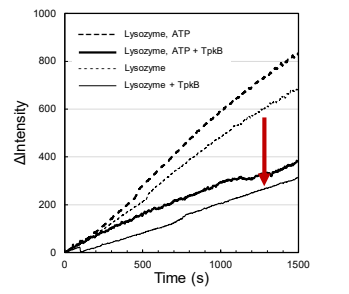
ネイティブアガロース電気泳動にて、相互作用の有無を検証した。



TpkB と TTHA0842 との相互作用が示唆された。

基質保護活性

モデル基質リゾチームを用いて、TpkB がリゾチームの熱変性を保護するかどうかを検討した。



TpkB が分子シャペロン活性を有する可能性が示唆された。

結論

- ・ 立体構造解析から、TpkB の属する PrkA/YeaG ファミリーは6量体リングを形成し、ATP 加水分解活性を有していた。
- ・ 同ファミリーは、ATP 加水分解エネルギーを用いて働く、AAA⁺ スーパーファミリーと呼ばれるグループに属していることを示した。
- ・ TpkB はゲノム下流の TTHA0842 と相互作用する可能性が見出した。
- ・ TpkB が分子シャペロンとして働く可能性が高いことを示した。

