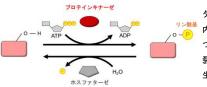
2025年度 次世代研究者挑戦的研究プログラム 「リゾーム型研究者人材育成による学際知プルーミング」 最分野研究交流会

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 島井雅之

イントロダクション -

<u>タンパク質のリン酸化</u>



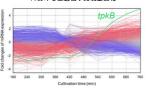
タンパク質のリン酸化は生体 内のシグナル伝達の手段の一 つであり、細胞分化や細胞分 裂、ストレス応答など多くの 生理機能にかかわっている。

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

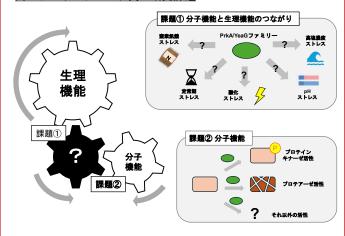


- ・ バクテリア特有で、かつ幅広い種で保有。
- ・ Walker A モチーフを有するプロテインキナーゼ
- 様々なストレスに対する感受性が報告されている。定常期で最大の転写量変化を示す。

高度好熱菌 Thermus thermophilus HB8 における全遺伝子発現量変化



同ファミリータンパク質の研究課題

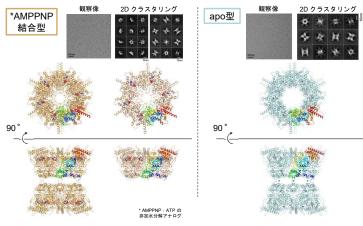


本研究では、上記課題のうち"課題②"について、立体構造解析と生化学解析の 両側面から研究を行い、同ファミリーの機能を突き止めることを研究目的とした。

結果と考察

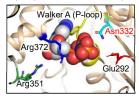
クライオ電子顕微鏡による単粒子解析

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。



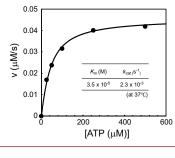
ANPPNP 周辺の保存残基

TpkB (AMPPNP 結合型6量体)



sn332 Se

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。

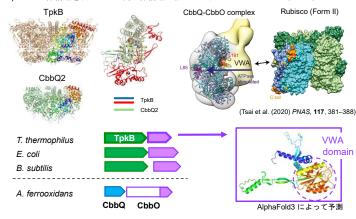
NtrC1 (AAA+ family)

Walker A (P-loop)

 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

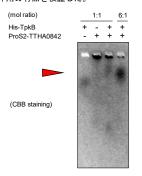
TpkB の立体構造を、タンパク質立体構造比較プログラム Dali によって比較した。



データベース上の立体構造との比較とゲノム配列の探索により、TpkB が 機能未知タンパク質 TTHA0842 と複合体を形成している可能性が見出された。

相互作用実験

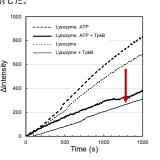
ネイティブアガロース電気泳動にて、相互 作用の有無を検証した。



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。

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い出した。
- 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。

