

28K-pm05

変異導入による酵母輸送タンパク質 Emp46p/47p のコイルドコイル会合メカニズムの解析

○加藤 紘一¹, 古橋 隆久¹, 松山 苑未¹, 野口 彩佳¹, 大島 由莉¹, 栗本 英治¹
(¹名城大薬)

【目的】酵母 Emp46p/47p は細胞内輸送に関わるタンパク質であり、両者は小胞体内でヘテロ複合体を形成、ゴルジ体に移行した後に解離することが知られている。この複合体形成は膜貫通領域と内腔のレクチン様ドメインを連結するコイルドコイル(Emp46c/47c)を介して起こることが明らかとなっているが、詳細なメカニズムは不明である。本研究は、変異体の解析などにより Emp46c/47c の会合・解離のメカニズムを解明し、それを新たなバイオ素子として応用することを目的とする。

【方法】部位特異的変異体など各種タンパク質は大腸菌発現系を用いて調製し、会合特性の変化をゲルろ過クロマトグラフィー等により解析した。また、CDを用いて熱安定性を評価した。

【結果】Emp46c のコイルドコイル内面には一つのグルタミン酸残基 (E303) が存在し、その側鎖の荷電状態が会合の制御に重要であることが示唆されている。そこで、この領域に種々の変異を導入した変異体の解析を行った結果、Emp47c とのヘテロ複合体形成には 303 番目のアミノ酸残基側鎖の嵩高さが重要であり、負電荷は必須ではないが会合の pH 依存性に関与することが明らかとなった。また、各種変異は Emp46c のホモ多量体の形成特性および熱安定性を変化させたが、このうち、熱安定性は Emp47c との複合体形成能と相関することが判明した。

【考察】本研究の結果から、Emp46c の 303 番近傍のアミノ酸残基側鎖の電荷や嵩高さは、Emp46c およびヘテロ複合体それぞれの安定性に影響し、両者のバランスが複合体形成の制御に重要であると考えられる。本研究で得られた種々の知見は、ヘテロ複合体の会合特性を様々に改変し応用する際に、極めて有用になるものと期待される。