

27L-pm05S

酵母輸送タンパク質 Emp46p/47p のコイルドコイルドメイン会合におけるプロリン残基変異の効果

○加藤 紘一¹, 栗本 英治¹ (¹名城大薬)

【目的】酵母輸送タンパク質 Emp46p/47p のコイルドコイルドメイン(Emp46c/47c)の会合は、Emp46c の疎水面に存在する E303 の荷電状態により制御され、その近傍への変異導入は会合特性を様々に変化させる。また、E303 を含むセグメントの両端にそれぞれ Pro 残基が存在しており、これらがコイルドコイルの会合制御に関与することが予想されるが、詳細は明らかとなっていない。本研究は、Emp46c/47c の会合におけるこれら Pro 残基の役割を解明し、Emp46c/47c の pH 依存的な会合をベースとした種々のセンサー、バイオ素子の開発に応用することを目的とする。

【方法】各種変異タンパク質は大腸菌発現系により調製し、会合特性、熱安定性をそれぞれゲルろ過クロマトグラフィーおよび CD により解析した。

【結果と考察】ヘリックスセグメント内のプロリン残基は、その屈曲、また安定性の低下をもたらすことが知られている。本研究では、Emp46c に存在する 2 つの Pro (P291, P312) を Ala に置換した変異体をそれぞれ作成し、安定性およびヘテロ複合体形成能を解析した。その結果、P291A, P312A の変異により、pH8, pH5 での熱安定性が上昇することが明らかとなった。また、野生型 Emp46c がモノマー-ダイマーの平衡で存在するのに対し、P291A ではダイマーとなる傾向が認められた。Emp47c とのヘテロ複合体形成において、pH8.0 ではそれぞれ野生型と同等であるが、P291A 変異体では低 pH 条件においてヘテロ複合体形成能が低下することが判明した。さらに、P291A 変異は、複合体解離 pH を野生型よりも高い領域にシフトさせる N297H 変異と組み合わせることにより、生理的 pH 領域において鋭敏な会合変換を示すことが明らかとなった。以上のように、Pro の変異は、今後、Emp46c/47c をベースとした pH センサーの開発において有用となることが期待される。