

蛋白質分子内および分子間の情報伝達；二成分情報伝達系

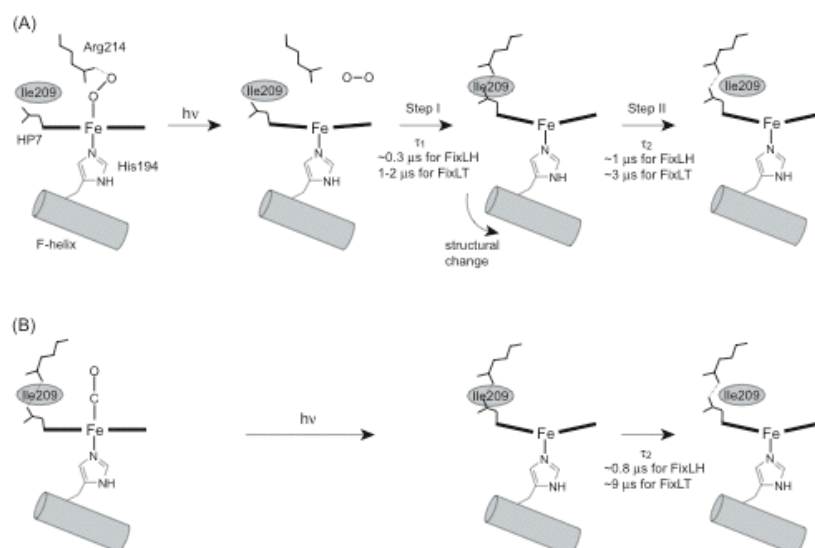
理化学研究所 放射光科学総合研究センター
山田齊爾、菊地晶裕、城 宜嗣

二成分情報伝達系は、細菌・カビから高等植物にまで普遍的に存在する細胞内情報伝達系であり、外部からの刺激に応じて特定の生理機能を遺伝子レベルで制御し、それにより生物の恒常性を保つ働きをしている。感知する刺激は、酸素濃度、ホルモン濃度、浸透圧、アミノ酸濃度、金属イオン濃度など多岐にわたり、さらに適応すべき生理機能として、窒素固定、化学走化性、浸透圧制御などなど個々の生物の生活環と密接に関係があるものが知られている。二成分情報伝達系は大腸菌において約 30 種類存在し、緑膿菌などの多剤耐性菌の生活環にも深く関わっている事も知られ、一方、動物には含まれないことから、その阻害剤は副作用の無い薬剤になりうる。また、エチレンは、発芽、落葉、成熟など植物の生活環に深く関わる植物ホルモンとして知られているが、その受容体も二成分情報伝達系に属している。

二成分情報伝達系は、二種類の蛋白質（センサーヒスチジンキナーゼ（HK）、レスポンスレギュレーター（RR））より構成されている。HK は外部刺激を感知するセンサー部位と、その刺激に応じて ATP の γ リン酸基を自己のヒスチジンへ転位する反応（自己リン酸化反応）を触媒する部位、そのヒスチジンを含む部位の 3 つのドメインよりなる。RR はこのリン酸基を受け取り（リン酸転移反応）、その後、転写制御因子として標的遺伝子の発現を促進する。この二成分系においての興味深いのは、センサー部位の構造は感知すべき刺激（リガンド）に応じて多様性に富んでいるのに対し、HK の他の 2 つのドメインならびに RR の構造は二成分系間で非常に相同性が高い点である。すなわち、外部刺激の感知方法は個々のセンサー蛋白質では異なるものの、その情報の分子内および分子間での伝達機構は普遍的である。このタンパク質分子内および分子間での情報伝達の仕組みを分子レベルで解き明かしていく事が本研究の目的である。

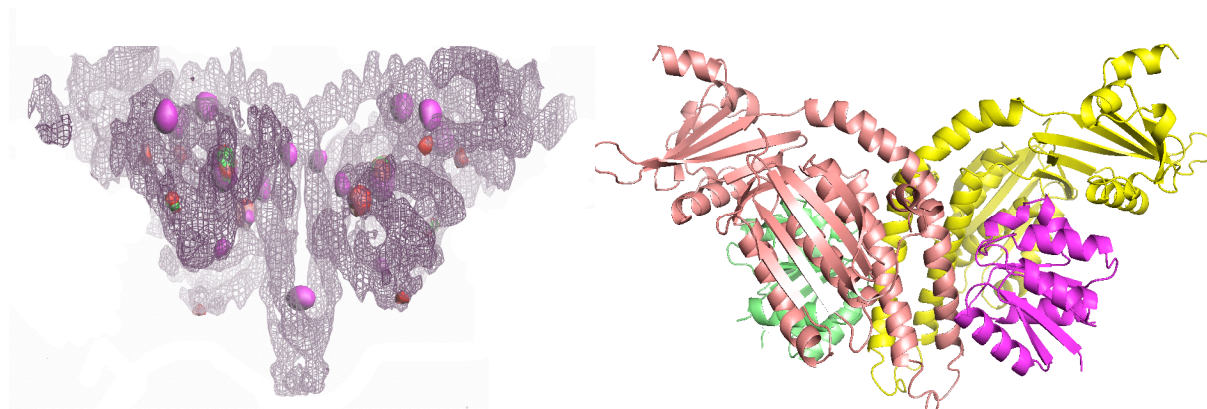
根粒菌に存在する酸素センサー蛋白質 FixL（上記の HK に相当する）は、酸素濃度を感知し、酸素に対して不安定な窒素固定関連酵素を酸素濃度が低い時のみに発現するように調節している。すなわち、FixL のセンサー部位に存在する鉄イオンに酸素が結合したときは酵素の発現をオフ、酸素が解離したときはオンになるような調節をしている。我々は 2000 年に FixL センサー部位の結晶構造を報告し、その後の生化学的・分光学的な解析により、酸素の有無によるセンサー部位の構造の違いを明らかにして来た。他のグループの研究結果と合わせて、その構造の差異がスイッチのオンオフに相当する機構を提案されている。すなわち、鉄に酸素分子が結合すると、その近傍のアルギニンの側鎖が動き酸素と水素結合をするが、このアルギニン側鎖の「動き」が引き金となり、センサー部位の構造変化を引き起こす。加え

て、同じ二原子分子でありながら、酸素分子と一酸化炭素分子を FixL が見分けている事を見いだした。最近、時分割ラマン分光法(ps~ms)により、その見分けの機構を右図に示すように明らかにする事ができた。



(A)酸素、(B)一酸化炭素の鉄からの解離に伴う、構造の経時変化

酸素センサー蛋白質 FixL において、センサー部位での構造変化を明らかにする事はできたが、この構造変化を引き金とする「情報伝達」の機構は未だ不明である。それはひとえにすべてのドメインを含んだ全長の FixL (あるいは HK) の構造解析が成功していないことによる。そこで、我々は、FixL と相同性の高い (25%程度) 好熱菌 *Thermotoga maritima* の二世分情報伝達系 ThkA (HK あるいは FixL に相当) と TrrA (RR に相当) との複合体構造を明らかにする事を試み、X 線小角散乱および X 線結晶構造解析によって明らかにする事に成功した。未だ、3.7 Å の低分解能であるが、このドメインの高分解能構造を得て、それらを全長 ThkA/TrrA 複合体の電子密度を基にモデル化する事にも成功した。



ThkA/TrrA 複合体の結晶構造解析。(左図) 電子密度、(右図) 再構成モデル

講演では、二成分系では世界初のこの構造を基に、タンパク質分子内、分子間の情報伝達について触れる。

最後に、時分割ラマン分光測定は水谷泰久教授 (大阪大学理学部) との共同研究である。