

X-ray Crystallography of Mitochondrial Signal Peptide Processing Enzyme Homolog, Zinc Protease from *Thermus thermophilus* HB8

Thermus thermophilus HB8 由来 ミトコンドリアシグナルペプチド切断酵素のホモログ

Zinc Protease の X 線結晶構造解析

Jun Ohtsuka¹, Yosuke Ichihara¹, Koji Nagata^{1,2}, Masaru Tanokura^{1,2}

大塚 淳¹, 市原 洋佑¹, 永田 宏次^{1,2}, 田之倉 優^{1,2}

(¹Grad. Sch. of Agric. Life Sci., Univ. of Tokyo, ²RIKEN Harima Institute at SPring-8)

(¹東大・院農生科, ²理研播磨)

e-mail: aa67011@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

ミトコンドリアのタンパク質は細胞質においてN末端にシグナルペプチドが付加された状態で合成され、ミトコンドリア内に輸送される。このシグナルペプチドはミトコンドリアのマトリックスにおいて切断され、ミトコンドリアタンパク質は成熟したタンパク質となる。Peptidase family M16B に属する金属プロテアーゼは、真核生物においてミトコンドリアタンパク質のプロセッシングに関わるという非常に重要な役割を担っている。原核生物にも相同タンパク質が存在するが、その構造や機能はほとんど未知のままである。

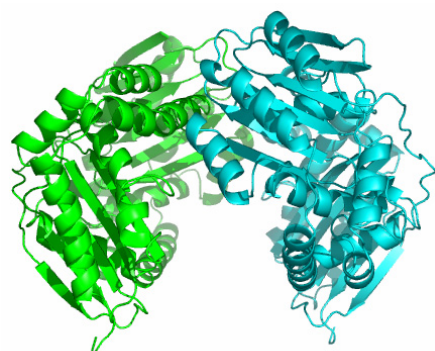
高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 Zinc Protease (TthZP) は、金属結合モチーフ HXXEH をもち、Peptidase family M16B に属する分子量約 89 k のタンパク質複合体である。すでに立体構造が明らかになっている酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 由来の mitochondrial processing peptidase (MPP) とアミノ酸配列上 26% の相同性がある。

MPP は分子量がほぼ同一の α 、 β サブユニットが 1 対 1 でヘテロダイマーを構成し、2 価の金属イオンによって活性化される金属プロテアーゼである。金属結合モチーフおよび酵素活性部位は β サブユニットに存在するが、 β サブユニット単独では活性を示さない。活性には α サブユニットが必要で、基質認識に寄与する。TthZP もヘテロダイマーを形成し、亜鉛イオン依存的にプロテアーゼ活性を示すと予想されるが、現在までに構造や機能に関する情報は得られていない。

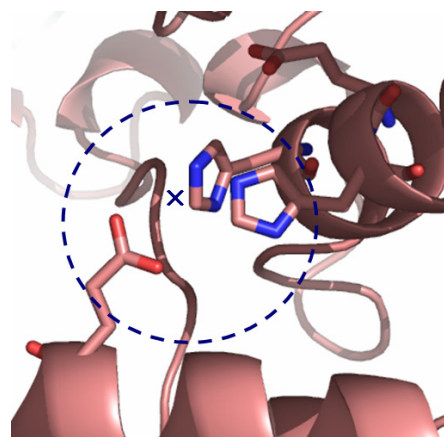
我々はこれまでに、セレノメチオニン標識タンパク質を用いて TthZP β サブユニットの単結晶を得て、Se SAD データセットを取得した。最高分解能 2.3 Å で結晶構造を決定した。MPP の β サブユニットと同様に、TthZP の β サブユニットもホモダイマーを形成していた。原核生物由来の Peptidase family M16B に属するタンパク質で立体構造が解析されたものはこれが初めてである。

References

- [1] Pollock RA, *et al.* (1988) EMBO J., 7, 3493-3500.
[2] Taylor AB, *et al.* (2001) *Structure*, 9, 615-625.



TthZP の結晶構造



TthZP の推定金属結合部位