

**Proteolytic removal of the long loop between two  $\alpha$ -helices,  $\alpha 2$  and  $\alpha 3$ , of TT2238, a four-helix bundle protein**

4ヘリックスバンドルトタンパク質 TT2238 の2つの $\alpha$ ヘリックス( $\alpha 2$ と $\alpha 3$ )間の長いループのプロテアーゼ活性による除去

Koji Nagata<sup>1,2</sup>, Jun Ohtsuka<sup>1</sup>, Hitoshi Iino<sup>2</sup>, Akio Ebihara<sup>2</sup> and Masaru Tanokura<sup>1,2</sup>

永田宏次<sup>1,2</sup>, 大塚淳<sup>1</sup>, 飯野均<sup>2</sup>, 海老原章郎<sup>2</sup>, 田之倉優<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Grad. Sch. of Agric. Life Sci., Univ. of Tokyo, <sup>2</sup>RIKEN Harima Institute at Spring-8)

(<sup>1</sup>東大・院農生科, <sup>2</sup>理研播磨)

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

枯草菌 *Bacillus subtilis* の 19-kDa タンパク質 YfiT に対し 25%の amino acid sequence identity がある *Thermus thermophilus* のタンパク質 TT2238 の結晶構造解析を昨年の本研究会で報告した。TT2238 は YfiT と同様、4ヘリックスバンドルトポロジーを有するポリペプチド鎖の2量体であった。ただし、TT2238 に特有な $\alpha 2$ と $\alpha 3$ 間の長いループ領域(約30残基)については電子密度が見られなかった(図1)。

YfiT の結晶構造では各単量体に1個の $Ni^{2+}$ イオンが3つのヒスチジン残基と3つの水分子を介して結合しており、この金属イオン配位子の位置がサーモリシンなどの金属プロテアーゼの活性中心のものと類似しているため、YfiT が金属依存性加水分解酵素である可能性が提唱されている [1]。TT2238 にもこの3つのヒスチジン残基が保存されているため、YfiT と同じく金属依存性加水分解酵素の可能性はある。

今回、結晶化に用いた TT2238 試料の質量分析から、結晶構造中、電子密度が見られない $\alpha 2$ と $\alpha 3$ 間の長いループ領域が、実際に欠失していることが明らかになった。カラム精製直後の TT2238 試料にはループ欠失は見られないが、その後、結晶化の過程で、試料に混在したプロテアーゼ活性または TT2238 自身のもつプロテアーゼ活性によりループ領域が切除されたと考えられる。現在、この2通りのループ除去の可能性について、検証を行っている。

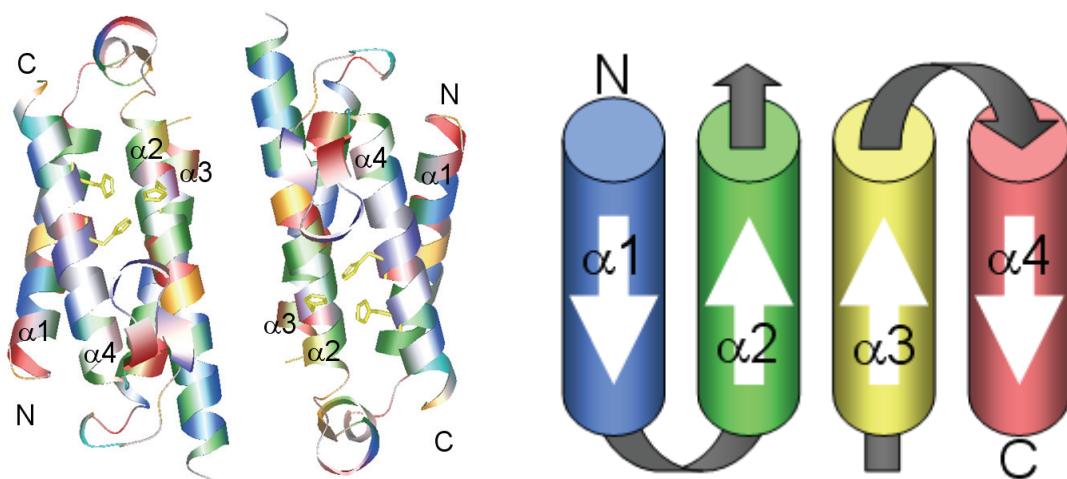


図1. TT2238 の結晶構造と4ヘリックスバンドルトポロジー

Reference

[1] Rajan, S. S. *et al. Biochemistry* **43**, 15472-15479 (2004).