

Thermus thermophilus HB8 由来コシャペロン GrpE の結晶構造解析

Crystal structure analysis of a cochaperon, GrpE from *Thermus thermophilus* HB8

内匠浩平¹, 中村 颯¹, 三木邦夫^{1,2}

Kouhei Takumi¹, Akira Nakamura¹, and Kunio Miki^{1,2}

(¹京大・院理・化学, ²播磨・理研/SPring-8)

(¹Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ., ²RIKEN Harima Inst./SPring-8.)

e-mail: takumi@kuchem.kyoto-u.ac.jp

分子シャペロンはポリペプチドの正しいフォールディングを助けるなど、様々な細胞機能発現に重要な蛋白質群である。その中で特に大腸菌でよく研究されている DnaK は、多くの生物種間で保存されている Hsp70 ファミリーに属している。DnaK は新生ポリペプチドやほどけた蛋白質の疎水性領域と結合して凝集を防ぎ、正しいフォールディングを促す ATP 依存性の分子シャペロンであり、補助因子の DnaJ および GrpE と協同的に働く。DnaK システムにおいて GrpE は ADP/ATP ヌクレオチド交換因子として働くことが分かっており、さらに近年このメカニズムには GrpE の温度センサーとしての機能が関わっていると報告されている。これは GrpE に特徴的な長く対になった α ヘリックスや 4 本束のヘリックスおよび β ドメインが温度により異なった構造をとることによって引き起こされている。なお 1997 年に *E. coli* 由来 GrpE の結晶構造が 2.80 Å 分解能で発表されているが¹⁾、*T. thermophilus* の GrpE とのアミノ酸配列の相同性は約 27% である。

われわれは高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 GrpE の立体構造を明らかにし、機能発現機構を理解することを目的に、結晶化および X 線回折実験を行った。結晶化実験はハンギングドロップ蒸気拡散法にて行い、金平糖型および板状の結晶を得た。シンクロトロン放射光を用いた X 線回折実験の結果、ネイティブ結晶および重原子(Au および Pt)置換体結晶から回折強度データを収集し、SAD により初期位相を決定した。空間群は $P4_32$ に属し、非対称単位中に GrpE が 2 分子存在していた。

Reference

- 1) Harrison, C. J., Hayer-Hartl, M., Di Liberto, M., Hartl, F., Kuriyan, J. (1997) *Science*, **276**, 431-435.