

配列が著しく異なる2つの天然変性タンパク質に共通する構造と機能

分子レベルから細胞レベルの生物学
およびその関連分野

研究者所属・職名 : 理学部生命理学科・助教

ふりがな おだ たかし

氏名 : 小田 隆

主な採択課題 :

- [基盤研究\(C\)「配列が著しく異なる2つの天然変性タンパク質に共通する構造と機能の解明」\(2020-2022\)](#)
- [新学術領域研究\(研究領域提案型\)「X線小角散乱を用いた再構成クロマチンの動的構造解析」\(2014-2015\)](#)

分野 : 構造生物学、生物物理学

キーワード : 天然変性、古細菌、DNA複製・修復、X線小角散乱、NMR、分子動力学計算

課題

●なぜこの研究をおこなったのか？(研究の背景・目的)

長い間、タンパク質はポリペプチド鎖が一定の立体構造に折れたたまることで機能できるとされてきた。しかし、生体内には一定の立体構造をとらないタンパク質「天然変性タンパク質(または天然変性領域)」が多数存在し、重要な働きを持つことが知られるようになった。天然変性タンパク質は一定の立体構造をとらないだけでなく、アミノ酸配列保存性が非常に低いことも特徴の一つである。このような天然変性タンパク質がどのようにして機能するのか疑問に持ち研究を行った。

●研究するにあたっての苦労や工夫(研究の手法)

天然変性タンパク質は、一見、ただのランダム構造でアミノ酸配列も保存されていないように見えるが、何か機能するための構造的、配列的特徴があるものと予想した。天然変性タンパク質は様々な構造の平衡状態にあると考えられ、構造的な特徴を理解するためには一般的な構造解析手法(X線結晶構造解析、NMR、クライオ電子顕微鏡)単独では難しく、X線小角散乱法、NMR、分子動力学計算(MD)など複数の手法を駆使する必要があった。



Tko AIKKIARELEKLRAR IKAQGEBGK IHAGVEKSGKGVDSK
Tga AIKRVARELEKAQQGRGK IRRER TGER-----VEMFSR
Pfu TIAKVSQAIK-----K

Tko GK IAP LDAFLKPKKVENTE IRE SKAVCKAAP QASEEK--SA
Tga SK I TSLDAFLKVKKAKKAGGEVMEKESKGNBSQTP QIQE
Pfu QKQTSLVDFVREKESERTSLKWLKKEEATEEKEEK---

Tko EKPKE-TTELP IKP IPVKKPK
Tga KRTAENRDKK IP IKP IPVKKPK
Pfu-----VKAGE

図1 天然変性タンパク質の揺らいだ構造とアミノ酸配列保存性のイメージ図

配列が著しく異なる2つの天然変性タンパク質に共通する構造と機能

分子レベルから細胞レベルの生物学およびその関連分野

研究成果

●どんな成果がでたか？どんな発見があったか？

損傷DNAの修復にかかわるタンパク質Hefの天然変性領域の構造的特徴、アミノ酸配列および機能を2つの生物種（好熱性古細菌 *Thermococcus kodakaraensis* および *Pyrococcus furiosus*）で比較した。HefはDNAクランプに結合し複製フォークで機能すると考えられていたが、2つの生物種間で天然変性領域は長さもアミノ酸配列も著しく異なっている。

(1) 生化学実験から2つのHefの天然変性領域はDNAクランプだけではなくDNAにも結合することでDNAクランプをDNA鎖上に安定にとどめておく役割があることがわかった。つまり大きく異なる2つのHefの天然変性領域に共通した機能があることを示した。

(2) 低分解能ではあるが動的構造情報を取得できるX線小角散乱法を用いて構造的特徴を調べた。その結果、天然変性領域は揺らいだ構造をとりながらもN末端側がDNAに結合していることがわかった。

(3) X線小角散乱法の欠点を補うため、MDやNMRを統合的に用いて二次構造レベル、残基レベルでの構造的特徴を調べた。その結果、Hefの天然変性領域のN末端側には α ヘリックスと塩基性残基という構造的・配列的特徴を持つことがわかり、これがDNA結合に重要であると示唆された。

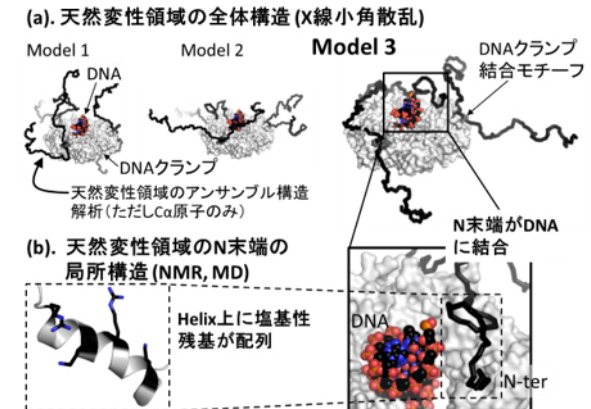


図2 複数の手法を用いて解析した天然変性領域の構造的特徴

今後の展望

●今後の展望・期待される効果

(I) DNAクランプに結合するDNA複製・修復関連タンパク質には天然変性領域を持つ例が多くみられるが、これらは一見、折れたたまったドメイン間をつなぐただのリンカーに見えるため、機能的な重要性はあまり議論されてこなかった。本研究の成果は、このように見過ごされてきた領域に新たな機能を発見するきっかけとなる。(II) 天然変性領域は液-液相分離により重要な機能を果たすともされており、近年、非常に注目されている。しかし、構造の柔軟性や配列保存性の低さは天然変性領域がどのようにして機能しているかを理解するうえで大きな障壁となっている。本研究で用いた複数の解析法を統合的に用いる方法は天然変性領域の構造・機能の理解に貢献すると期待される。