



AichiSR

プロテアソーム集合シャペロン PAC3 の高分解能 X 線結晶構造解析

佐藤匡史¹, 加藤晃一^{1,2}

1 名古屋市立大学・大学院薬学研究科, 2 生命創生探求センター(ExCELLS), 自然科学研究機構,
3 分子科学研究所, 自然科学研究機構

キーワード：プロテアソーム、集合シャペロン、PAC3、*in silico* ドラッグスクリーニング

1. 背景と研究目的

細胞内の主要なタンパク質分解装置であるプロテアソームは、品質管理、免疫応答、細胞周期など、生命現象の様々な局面で重要な役割を演じている。最近の研究を通じて、プロテアソームの4次構造形成は自発的には起こらず、サブユニット集合を介助する複数のシャペロン分子が関与する複雑なプロセスであることが明らかにされつつある。また、がん細胞においてプロテアソームは活発に発現するため、プロテアソームの阻害剤は抗がん剤として用いられており、創薬標的としても注目されている。本研究では、触媒コア粒子を構成する α リングの形成に関わる PAC3 に着目した。これまでに PAC3 の立体構造は 2.00Å の分解能で明らかにしているが、推定される α サブユニットとの結合部位がパッキングに大きく関わっていたため、*in silico* ドラッグスクリーニングのデータの解釈には、十分な注意が必要である。また、*in silico* 解析を行う場合、標的立体構造の分解能の向上も重要である。そこで本実験では、PAC3 の結晶化条件の再検討を行い、高分解能の立体構造決定を行うことを目的とした。

2. 実験内容

ヒト由来 PAC3 は大腸菌発現系により調製を行った。PAC3 の結晶化条件の検討は、ランダム希薄マトリックス法を用いた結晶化スクリーニングによって行った。結晶化は、シッティングドロップ蒸気拡散法により作成した。その結果、PEG2000 モノメチルエーテルを沈殿化剤とする結晶化条件において良質の結晶を得ることができた。得られた結晶の X 線回折強度データは、BL2S1 ビームライン ($\lambda = 1.1200$ Å) を用いて収集した。

3. 結果および考察

X 線回折実験の結果、1.35Å の高分解能の回折強度データを収集することができた。結晶は三方晶系で空間群 $P3_121$ に属し、格子定数は $a=71.5$, $b=71.5$, $c=47.3$ Å であった。得られた回折強度データを用いて、PAC3 の正方晶系の結晶構造 (PDB code: 2Z5E) をサーチモデルとした分子置換法により初期位相を決定した。得られた初期構造を用いて構造精密化を行なった結果、最終的に $R_{\text{work}}=12.0\%$, $R_{\text{free}}=16.0\%$ の高精度で、立体構造を決定することが出来た。解析の結果、三方晶系と正方晶系の結晶構造では推定される α サブユニット結合部位のループが大きく異なっていることが見出された。今後は、今回明らかになった構造変化を考慮した *in silico* ドラッグスクリーニングを行い、得られた候補化合物と PAC3 の複合体結晶の作製、およびシンクロトロン回折データ収集を行う予定である。

本研究は、プロテアソームの構造形成がサブユニット集合を介助する一連のシャペロンの関与のもとで進行するプロセスであることに注目し、その形成過程を標的とする新たな創薬の可能性を切り拓くものである。

4. 参考文献

該当なし。