

光合成装置の構築における分子シャペロンの役割

The Roles of Molecular Chaperones in the Assembly of Photosynthetic Apparatus

プロジェクト代表者: 仲本 準 (大学院理工学研究科・助教授)

Hitoshi Nakamoto

1 目的

分子シャペロン (molecular chaperone) は、リボソームで合成された直後の新生ポリペプチドの折れたたみ (folding) や集合 (assembly)、変性タンパク質の再生などを介助する。ポリペプチドやその複合体が天然あるいは成熟した構造に至る途上で、本来は分子内部や分子間相互作用部位に折り込まれる疎水性アミノ酸残基が分子表面に露出するために、他の非天然構造タンパク質と相互作用して凝集しフォールディング経路から逸脱しやすくなる。このような疎水性領域に分子シャペロンが一過的に結合して、正しい折れたたみや分子集合に導く。高温などのストレス下では熱ショックタンパク質 (Hsp) として著しく誘導されて、変性タンパク質の不可逆的凝集阻止や天然の構造への再生、タンパク質凝集塊の可溶化、あるいは変性タンパク質の分解に関与する。

フィコビリソーム (phycobilisome) は、フィコシアニンなどのフィコビリタンパク質とリンカーポリペプチド (以下、リンカーと略す) が数百分子集合して秩序正しく構築された巨大な超分子会合体で、光エネルギーを吸収するアンテナの働きをする光合成装置である。

本研究では、(1) フィコビリソームの構築過程における分子シャペロン HtpG (Hsp90 ファミリーにおける原核生物のメンバー) の役割、(2) ヘムに加えて、クロロフィルやフィコビルリン (フィコシアニンの発色団) などのテトラピロールの合成経路における初期段階の反応を触媒する必須酵素 Uroporphyrinogen decarboxylase と HtpG の特異的相互作用、を明らかにすることを目的とした。

2 成果

(1) 光合成集光装置フィコビリソームの構築過程における分子シャペロン HtpG の役割

フィコビリソーム構造の骨組みをなすと考えられているが、その不安定性ゆえに研究の進展がないリンカーに焦点をあてて研究を進めた。フィコビリソームを解離させると3種類のリンカーが (高温では著しく) 凝集したが、HtpG (Hsp90) は 30 kDa リンカーの凝集を効果的に阻止した。30 kDa リンカーを大腸菌で発現させ、不溶性のリンカーを尿素で可溶化し精製した。尿素を希釈し高温にするとリンカーは変性したが、リンカーと等モルの HtpG (2量体) の添加によって凝集体形成が抑制された。これらの結果は、フィコビリソームの構築過程においてリンカーの安定化に HtpG が寄与することを示唆するものである。米国カルフォルニア大学の David Agard 教授 (構造生物学者) と共同で、HtpG と 30 kDa リンカーの複合体の結晶化条件を検討している。なお、HtpG とその標的タンパク質との複合体の結晶構造解析はまだ報告がない。

(2) Uroporphyrinogen decarboxylase と HtpG の特異的相互作用

東京農業大学の吉川博文教授らと共同で酵母ツーハイブリッドスクリーニングを行い、シアノバクテリア HtpG と Uroporphyrinogen decarboxylase 間の相互作用を *in vivo* で検出した。これら二種のタンパク質を大腸菌で大量発現して高度に精製することができた。現在これらの相互作用を *in vitro* で解析しているが、今後この酵素の活性調節を介した HtpG の広範な細胞機能を明らかにしていく予定である。

(3)細胞内におけるフィコビリソーム構築過程の電子顕微鏡による解析

金子康子助教授と共同で、永山國昭教授(自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター)らが最近開発したヒルベルト微分コントラスト電子顕微鏡により、急速凍結しただけの無固定無染色細胞における RuBisCO 酵素分子が、従来の透過電子顕微鏡に比較してはるかに高コントラストで観察されることをまず明らかにした。これは、この顕微鏡を用いれば生きた状態に近い細胞のタンパク質分子が観察可能であることを示すものである。さらにフィコビリソーム・ロッド構造や、ロッド内のリンカーと考えられる構造物を検出した。

3 関連発表論文

Kaneko, Y., R. Danev, K. Nagayama and H. Nakamoto

Intact Carboxysomes in a cyanobacterial cell visualized by Hilbert differential contrast transmission electron microscopy

J. Bacteriol., 188 (2): 805-808, 2006.

Nakamoto, H. and D. Honma

Interaction of a small heat shock protein with light-harvesting cyanobacterial phycocyanins under stress conditions.

FEBS Lett., 580(13): 3029-3034, 2006.