

Protein Disulfide IsomeraseとHuman Thioredoxinの構造と機能に及ぼす圧力効果に関する研究

阿度 和克

Protein Disulfide Isomerase (PDI)は、新生タンパク質の分子内ジスルフィド結合形成に関与し、チオールジスルフィド間の酸化、還元、異性化反応を触媒する。また、変性タンパク質やミスフォールディングタンパク質の凝集を抑制するシャペロン能も有する多機能タンパク質である。PDIは、Thioredoxinファミリーに属する酵素であり、その構造は、Thioredoxinに酷似した4つのドメイン(a, a', b, b')と末端に小胞体残留シグナル (KDEL) を含む小さなドメイン c (約40残基) から構成される分子量55kDaのタンパク質である。

本研究では、このPDIと共に、PDIドメインと構造が酷似しているThioredoxinにも着目し、圧力効果の観点から研究を行った。研究は、PDIおよびThioredoxinの構造変化と機能失活の関係を明らかにすることを目的とし、主にWCXXCで表される活性部位のトリプトファン蛍光を追跡することにより、活性部位周辺の構造変化の解析を行った。圧力効果と並行して、変性剤効果や酸化剤（酸化型グルタチオン）を用いた研究を行うことにより、PDIおよびThioredoxinの活性部位に高圧下で具体的にどのような構造変化が起こっているのかを明らかにした。本研究の成果として、高圧下（400 MPa）で起こるPDIの構造変化は、主に圧縮による影響が大きく、常圧に戻すと3次構造も2次構造も完全に回復し、イソメラーゼ活性およびシャペロン活性についても、加圧前と加圧後のPDIで同様の活性能を保持していた。一方、Thioredoxinは、高圧下（400 MPa）でPDIよりも大きな構造変化が観測され、水分子のThioredoxin内部への浸入による構造変化が大きいことが明らかとなった。また、Thioredoxinは、常圧に戻しても3次構造、2次構造共に完全には構造が回復せず、Thioredoxinの持つジスルフィド還元活性も失活していることが確認された。これらの結果から、Thioredoxinと同様のドメイン構造を持つPDIがThioredoxinよりも高い構造安定性を持ち、機能失活が起こりにくいことを証明した。本論文では、これらの結果をまとめ、高圧下におけるPDIとThioredoxinの変性メカニズムについて考察を行った。