

プロテインジスルフィドイソメラーゼファミリータンパク質の機能解析

木村 太地

本研究では、ファージ抗体ライブラリーからprotein disulfide isomerase(PDI) ファミリータンパク質に存在するCGHCモチーフを認識する新規scFvを選択し、in vivo、in vitroにおけるこれらタンパク質の機能を解析した。CGHCモチーフとその近辺配列はPDIファミリータンパク質間で保存されているにもかかわらず、PDIファミリータンパク質に対するポリクローナル抗体はCGHCモチーフを認識しなかった。そこでこの自己免疫反応をさけるため人工ファージ抗体ライブラリーを用い、CGHCを認識する新規の単鎖抗体(scFv)を得ることに成功した。

PDIファミリータンパク質が同じ配列の活性部位を持っていても、それらのイソメラーゼ活性はタンパク質ごとに異なっている。そこで種々のPDIファミリータンパク質変異体を調製し、選択したscFvの個々の活性部位に対する親和性を測定した。その結果、PDIファミリータンパク質のイソメラーゼ活性の強さは、活性部位に対するscFvの近付きやすさと関連することが明らかになった。これは活性部位周辺の環境がタンパク質のイソメラーゼ活性の強さを決定することを示唆する最初の結果である。一方酵母には4種類のPDIファミリータンパク質があるが、その一つであるMpd1pは、PDIとまったく同じCGHCモチーフと周辺アミノ酸配列を持っているにもかかわらず、そのイソメラーゼ活性はPDIより極めて低かった。また酵母のPDIファミリータンパク質はMpd1p以外はすべてシャペロン活性を有していたが、イソメラーゼ活性はPDIだけが有していたことから、酵母の生育が完全にPDIだけに依存していることを示した。以上のことからCGHCだけがイソメラーゼ活性の強さを決める重要な要因ではないことを示した。

またscFvを使って、CGHCモチーフにつづくリジン残基がほとんどのPDIファミリータンパク質のイソメラーゼ活性を上昇させることを見出した。すなわちPDIファミリータンパク質のイソメラーゼ活性は活性部位のアミノ酸配列だけでなく、活性部位周辺の環境にも依存することが明らかになった。