

抗体タンパク質を用いた構造変化トラップによるアデニル酸キナーゼの活性制御

(奈良先端大 物質創成¹・京都府立大院 生命環境²) 中村 伊武輝¹、雨坂 心人²、米澤 健人¹、上久保 裕生¹、田中 俊一²、○松尾 貴史¹

Activity regulation for adenylate kinase through conformational change trapping with antibody proteins (¹*Division of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology*, ²*Department of Biomolecular Chemistry, Kyoto Prefectural University*) Ibuki Nakamura,¹ Hiroshi Amesaka,² Kento Yonezawa,¹ Hironari Kamikubo,¹ Shun-ichi Tanaka,² ○Takashi Matsuo¹

Conformational trapping for biomacromolecules is a promising strategy of the function regulation for enzymes with large conformational changes. Accordingly, we attempted to regulate the activity of adenylate kinase (Adk), a phosphoryl transfer-mediating enzyme between ATP/ADP/AMP with the conformational interconversion of OPEN/CLOSED form, using low-molecular-weight antibody mimetics (“monobodies”) that recognize each conformation of Adk. Monobodies binding specifically to the OPEN form of Adk were found to decrease the Adk catalytic activity. Small angle X-ray scattering spectroscopic analysis for one of the monobodies complexed with Adk displayed the complexation fashion at the hinge part of Adk, not at its active site. The result indicates that the conformation trapping strategy is applicable for the enzymatic activity regulation without direct influences to the active site of the targeted enzyme.

Keywords : *Antibody; Conformational change trapping; Adenylate kinase; Function regulation; Small-angle X-ray scattering*

機能発揮時に大きな構造変化を伴うタンパク質に対して、その構造変化過程をトラップする手法は、活性部位への摂動に基づく方法と並ぶ有用な機能制御戦略であり、ウイルス感染防御や細胞工学への応用も期待される。そこで、OPEN⇌CLOSEDの構造変化を伴って ATP/ADP/AMP 間のリン酸基転移を触媒するアデニル酸キナーゼ (Adk) をモデル例として、Adk の OPEN/CLOSED 構造それぞれを特異的に認識し、ヒトフィブロネクチンタイプ III ドメインを分子骨格にもつ低分子抗体ミメティック「モノボディ」を調製し、Adk の活性制御、Adk-モノボディ複合体の構造評価を試みた。Adk に対するモノボディについては、M13 ファージを用いたファージディスプレイライブラリから、CLOSED 型に結合するものを 1 種類 (CL-1)、OPEN 型に結合するものを 3 種類 (OP-2, 3, 4) 取得できた。このうち、エピトープが重複しない OP-2 と 4 について、Adk 活性に対する影響を評価したところ、OP-2、4 とともに、酵素反応の初期過程が減速する傾向が観測された。一方、CL-1 による Adk 活性への効果は見られなかった。さらに、OP-4 について、X 線小角散乱で Adk との複合体構造を解析したところ、OP-4 は、構造が開閉するヒンジ部分に結合しているという結果が得られた。つまり、基質結合部位ではなく、酵素表面のヒンジ領域への摂動で酵素活性に必須の構造変化をトラップするというユニークな活性制御機構が明らかとなった。