

タンパク質膜挿入に関わる糖脂質酵素 MPIase の作用原理の解明とその応用

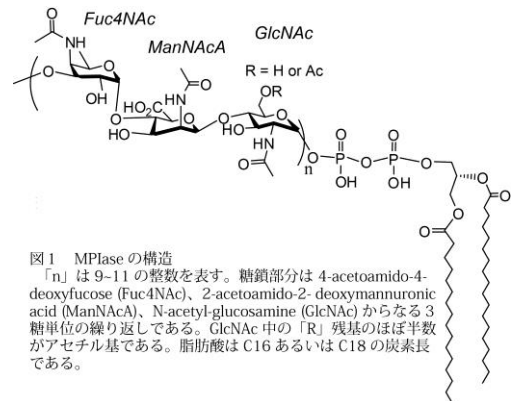
岩手大学農学部 西山賢一

【略歴】

1989年3月 東京大学工学部工業化学科卒業
1994年3月 東京大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了・博士（農学）
1993年4月～1996年3月 日本学術振興会特別研究員
1996年4月～2004年2月 東京大学分子細胞生物学研究所 助手
2002年2月～2004年2月 EMBO Long-term fellow, Freiburg University
2004年2月～2009年12月 東京大学分子細胞生物学研究所 助教授・准教授
2010年～ 岩手大学農学部附属寒冷バイオフィロンティア研究センター 教授

はじめに

膜内在性タンパク質（膜タンパク質）はすべての生物の生体膜に存在し、生命機能発現に必須の役割を果たしている。タンパク質膜挿入反応は、基本的なレベルではすべての生物において普遍的な分子機構で進行すると考えられている。実際、膜挿入反応に関与する中心的な因子についてはすべての生物で保存されている。SRP（シグナル認識粒子）は合成途中の膜タンパク質に結合し、SRP-膜タンパク質新生鎖-リボソーム複合体は膜上のSRP受容体（SR）に輸送され、その後タンパク質膜透過チャネル（SecYEGやSecE1複合体）上で膜挿入が進行する。SRPやSR、タンパク質膜挿入チャネルはすべての生物で保存されている。タンパク質膜挿入の分子機構を明らかにするため、モデル生物大腸菌を用いてタンパク質膜挿入の試験管内での再構成を進めてきた。その結果、タンパク質膜挿入にはMPIase（Membrane Protein Integrase）と命名した糖脂質（図1）が必須であることを発見し、MPIaseの構造と機能の関係、さらにはMPIaseの応用の可能性について研究を進めてきた。



タンパク質膜挿入の分子機構を明らかにするため、モデル生物大腸菌を用いてタンパク質膜挿入の試験管内での再構成を進めてきた。その結果、タンパク質膜挿入にはMPIase（Membrane Protein Integrase）と命名した糖脂質（図1）が必須であることを発見し、MPIaseの構造と機能の関係、さらにはMPIaseの応用の可能性について研究を進めてきた。

自発的膜挿入とジアシルグリセロール ～ MPIase の発見

大腸菌において一部の膜タンパク質（M13 procoat タンパク質やPf3 coat タンパク質等）はSRPにもSecYEGにも依存せずに膜挿入する。膜貫通領域がC末端領域に存在し、SRPが結合する前にタンパク質合成が終了してしまうためである。これらのタンパク質の膜挿入はリン脂質のみで形成したリポソームにも膜挿入することから、膜貫通領域と脂質の疎水的相互作用により「自発的膜挿入」と考えられてきた。我々はリポソームに生理的濃度のジアシルグリセロールを加えることにより自発的膜挿入が完全にブロックすることができることを見出した^{1,2}。さらに、自発的膜挿入が起こらない条件では未知の因子が必要であることも明らかにした。M13 procoatやPf3 coatの膜挿入を指標に膜挿入因子を精製したところ、分子量約7 kDaの糖脂質が同定された。この因子はSRPやSecYEGに依存する膜挿入反応にも必須であった。M13 procoatやPf3 coatの膜挿入はこの因子のみにより触媒されることから、この因子をMPIase（Membrane Protein Integrase）と命名した³。これらの結果から、MPIaseはタンパク質膜挿入反応を触媒する「糖脂質酵素（Glycolipozyme）」であるという概念を提唱した⁴。これは、糖脂質がタンパク質のような酵素様の触媒活性をもつという、初めての発見である。

MPIase の構造-機能解析

MPIase の構造を決定し (図 1)、構造と機能の相関関係を明らかにした。MPIase の糖鎖部分は、基質膜タンパク質と相互作用して、膜挿入能をもった可溶性の複合体を形成することを明らかにした。このことは、MPIase の糖鎖部分は膜タンパク質に特化した分子シャペロン様の機能をもつことを示している。膜挿入後は新たなサイクルの膜挿入反応に関わり、複数サイクルの膜挿入反応が進行する⁴ (図 2)。

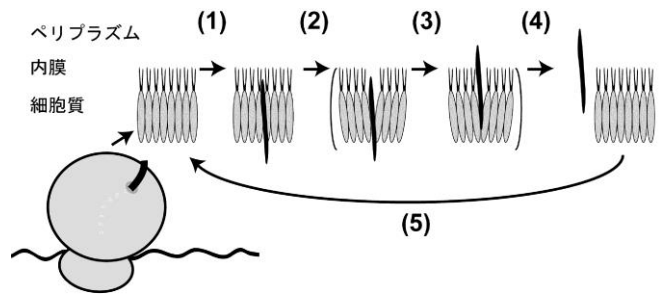


図2 MPIaseによる膜挿入反応の反応機構
膜上のMPIaseの糖鎖部分に合成直後の膜タンパク質(黒)が受け渡され(1)、MPIaseが構造変化することにより膜挿入が進行する(2)~(4)。その後MPIaseは再度反応を触媒する(5)。(2)~(4)の段階は予想構造変化である。

タンパク質膜透過反応におけるMPIaseの作用

MPIaseはタンパク質膜挿入反応に必須であるだけでなく、分泌タンパク質の膜透過反応を著しく促進することが判明した。その理由は、MPIaseはSecYEGの二量体構造に影響を及ぼし、結晶構造が解析されている「back-to-back構造」から「side-by-side構造」に変化させることであった⁵ (図3)。「side-by-side構造」においてのみSecGの反転サイクル⁶が作動でき、膜透過活性が著しく促進される。

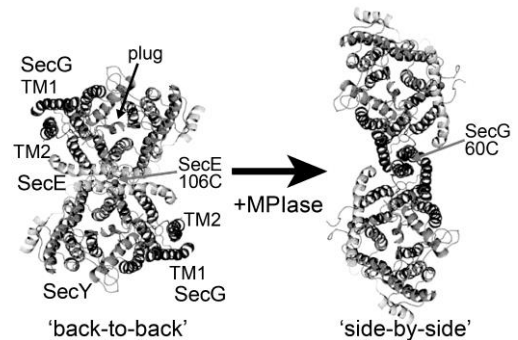


図3 MPIaseによるSecYEG二量体構造の変化
MPIaseによりSecYEGの二量体構造がback-to-back構造(左)からside-by-side構造(右)へと変化する。薄いグレーがSecE、濃いグレーがSecG、中間のグレーがSecYを表す。互いに接近したとき架橋できるSecE 106CとSecG 60Cの位置は点で示した。SecYのプラグ領域の位置も示した。

今後の展望

タンパク質膜挿入の分子機構は、基本的なレベルではすべての生物で保存されている。そのため、動物や植物においてもMPIaseと同様の作用を示す化合物が存在する可能性が強い。実際、ダイズ由来のサンプルではMPIaseと同様に膜挿入反応を触媒する化合物が同定され、構造解析を進めている。

応用的にはまず、MPIaseの糖鎖部分が膜タンパク質と可溶性複合体を形成する性質を利用し、膜タンパク質全般に適用できる「膜タンパク質可溶化剤」を開発する。界面活性剤とは異なり、MPIaseの糖鎖部分は生体膜を可溶化しないため、膜小胞の可溶化を心配する必要のない汎用的な膜タンパク質可溶化剤の開発が期待できる。さらには、MPIaseを始めタンパク質膜挿入に関与する因子を組み込んだプロテオリポソームを用意すると、ハイスループット解析用の膜タンパク質試験管内生合成・膜挿入システムの開発が期待できる。

謝辞

MPIaseの研究に参画していただいた多くの先生方、学生諸氏に感謝いたします。特に、サントリ一生物有研の楠本正一先生(当時)、島本啓子先生、Freiburg大学のMatthias Müller先生、東大分生研の徳田元先生(当時)に御礼申し上げます。

参考文献

- 1 Nishiyama, K. *et al. J. Biol. Chem.* **281**, 35667-35676 (2006).
- 2 Kawashima, Y., Miyazaki, E., Muller, M., Tokuda, H. & Nishiyama, K. *J. Biol. Chem.* **283**, 24489-24496 (2008).
- 3 Nishiyama, K. *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **394**, 733-736 (2010).
- 4 Nishiyama, K. *et al. Nat. Commun.* **3**, 1260 (2012).
- 5 Moser, M., Nagamori, S., Huber, M., Tokuda, H. & Nishiyama, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 9734-9739 (2013).
- 6 Nishiyama, K., Suzuki, T. & Tokuda, H. *Cell* **85**, 71-81 (1996).