

平成 29 年 4 月 3 日

報道機関 各位

東北大学多元物質科学研究所

細胞内 pH 変化を利用したタンパク質品質管理のメカニズム - pH センシング機構の構造基盤を解明 -

【発表のポイント】

- タンパク質の正常な分泌を監視する役割を担う ERp44 について、pH の異なる二つの状態の立体構造を世界で初めて明らかにした。
- ERp44 ファミリーのタンパク質間で高度に保存されたヒスチジン残基のプロトン化状態によって、pH 依存的な構造変化を引き起こされることが分かった。
- pH 依存的な構造変化によって、ERp44 の分子表面電荷がより正に帯電し、また C-末端領域が解離しやすくなることによって、ERp44 とその結合相手のタンパク質との静電相互作用が促進されることが分かった。

【概要】

東北大学多元物質科学研究所の渡部聡助教、稲葉謙次教授、サン・ラファエル研究所(イタリア)のシティア教授らの共同研究グループは、細胞中で分泌タンパク質の品質管理を担う ERp44 というタンパク質について、中性および酸性条件下における立体構造を X 線結晶構造解析によって決定し、細胞内の pH 変化に応答した ERp44 の構造変化を明らかにしました。構造解析の結果、保存された複数のヒスチジン残基(タンパク質を構成するアミノ酸の一つ)が、pH 変化に伴いプロトン化状態(水素原子が一つ結合した状態)を安定化することによって、全体のドメイン配置や局所的な構造変化が誘起され、分子表面の電荷分布が大きく変化することが分かりました。また ERp44 が様々な未成熟の分泌タンパク質を捉える仕組みも明らかになりました。本研究により、細胞内の分泌経路におけるタンパク質品質管理機構の一端が分子構造レベルで深く解明されました。

本論文は、米国科学誌「米国科学アカデミー紀要(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)」のオンライン版において、2017 年 4 月 3 日午後 3 時(米国東部時間)に公開されます。

【詳細な説明】

食べ物を分解する消化酵素や、外敵から身を守るための抗体などの分泌タンパク質は、細胞内小器官の一つである小胞体^{注1)}において合成されます。細胞内には、正しく折りたたまれた分泌タンパク質のみがゴルジ体を経由して細胞外へと運び出される仕組みが存在します。このタンパク質の品質管理システムにおいて、ERp44 というタンパク質は、不完全な分泌タンパク質をゴルジ体^{注2)}で捉え小胞体へと戻し、成熟化を促進させる役割を担います。また ERp44 は、他の小胞体局在タンパク質をゴルジ体から小胞体へと戻す役割もあり、細胞内の分泌経路におけるタンパク質品質管理の監視役として重要な役割を担っています。(図 1)。これまでの我々の研究によって、ERp44 は小胞体とゴルジ体間の pH 勾配を利用して、結合相手のタンパク質との相互作用を制御していることを明らかにしました。すなわち、弱酸性のゴルジ体において、ERp44 は様々な構造未成熟のタンパク質と複合体を形成し、小胞体へと輸送されます。中性である小胞体に戻されると、ERp44 と構造未成熟なタンパク質は解離し、小胞体に存在する種々の因子の助けを借りて、解離したタンパク質は正しい立体構造形成を獲得することが分かっています。しかしながら、ERp44 が小胞体とゴルジ体間の pH 変化を感知する仕組みや、複数のタンパク質を広く認識するメカニズムについては分かっていませんでした。

本研究では、ERp44 の pH センシング機構を明らかにするため、中性および酸性条件における ERp44 の立体構造を X 線結晶構造解析と呼ばれる手法によって決定しました。ERp44 は、PDI ファミリータンパク質の一つであり、全体構造は3つのチオレドキシシン様ドメイン(a、b、b')と C 末端テール領域で構成されます(図 2)。今回の構造解析によって、以前報告された結晶構造では構築されていなかった領域の大部分を構築することができ、特に C 末端テール領域の根元に存在するヒスチジンと呼ばれるアミノ酸が集中する領域(His クラスターと名称)の構造が明らかになりました。弱酸性条件(ゴルジ体の pH)と中性条件(小胞体の pH)で決定した ERp44 の立体構造を比較した結果、弱酸性条件下では、ドメイン間の相互作用に関わるヒスチジン残基に水素原子が一つ結合する(プロトン化する)ことによって ERp44 の 3 つのチオレドキシシン様ドメインの相対配置が変化し、基質との結合に関わるとされる正電荷を帯びた領域が大きく露出することが明らかになりました(図 3)。また、His クラスターのプロトン化によって、一部の α ヘリックスと呼ばれる構造が崩れ、基質結合部位を覆っている C 末端テールが ERp44 の本体の領域から離れやすくなることが示唆されました。興味深いことに、ERp44 の基質となるタンパク質の立体構造を調べた結果、ERp44 との結合に関わるとされるシステイン残基の周辺には、共通して負に帯電した領域が存在することが明らかになりました。以上の結果から、pH に依存した構造変化を介して、正に帯電した ERp44 と負に帯電した様々な基質タンパク質との静電相互作用が促進される、というタンパク質間の新しい認識の仕組みが明らかとなりました。

【今後の展開】

本研究の成果は、細胞内の pH 変化を利用したタンパク質が司る種々の生理現象の基盤となることが期待されます。特に本研究で取り上げた ERp44 というタンパク質は、免疫グロブリン M や糖の細胞内取り込みに関わるアディポネクチンという分泌タンパク質の生合成にも深く関わることが知られており、ERp44 を介したタンパク質品質管理機構の解明は、抗体産生機構や糖尿病発症機構の一端について、分子構造レベルでの理解にもつながると期待されます。また今回明らかになった His クラスターの立体構造から、ERp44 の機能制御に金属イオンの関与も推定され、タンパク質品質管理における金属イオンに着目した研究が今後展開されることが期待されます。

【用語解説】

注 1) 小胞体

網目状に連なる膜性の細胞小器官で、細胞内のカルシウムの貯蔵のほか、分泌タンパク質のフォールディングや修飾、脂質代謝、細胞内物質輸送などを担う。

注 2) ゴルジ体

小胞体の下流に位置しており、複数の層によって形成されている細胞小器官。小胞体から分泌されたタンパク質は、ゴルジ体において、糖鎖付加などさらなる修飾・加工を受け、細胞外へと分泌される。

【発表論文】

著者: Satoshi Watanabe, Manami Harayama, Shingo Kanemura, Roberto Sitia, and Kenji Inaba

タイトル: Structural basis of pH-dependent client binding by ERp44, a key regulator of protein secretion at the ER-Golgi interface

雑誌名: Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学 多元物質科学研究所

教授 稲葉 謙次 (いなば けんじ)

Tel : 022-217-5604 E-mail : kinaba@tagen.tohoku.ac.jp

助教 渡部 聡 (わたなべ さとし)

Tel : 022-217-5605 E-mail : stwata@tagen.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学多元物質科学研究所 広報情報室

Tel: 022-217-5866 E-mail: press.tagen@grp.tohoku.ac.jp

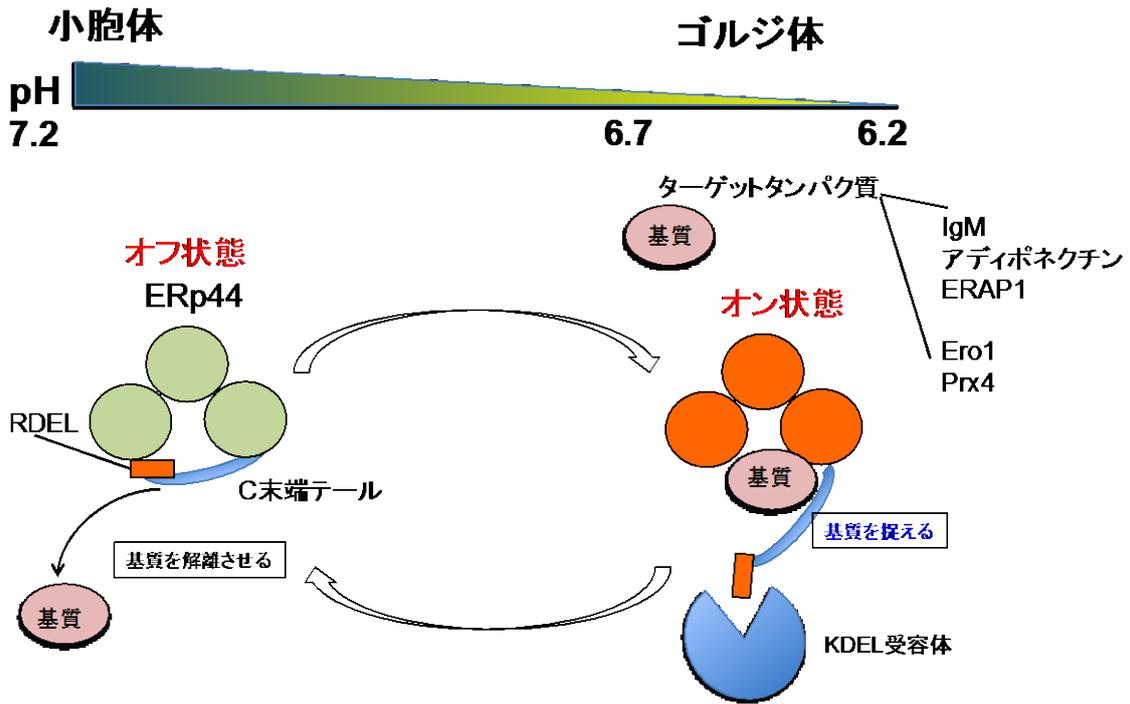


図1 細胞内 pH 勾配を利用したタンパク質品質管理
ERp44 は、弱酸性のゴルジ体において、未成熟な IgM や、Ero1 などの小胞体局在タンパク質を捉え、KDEL 受容体を介して、小胞体へと逆輸送させる

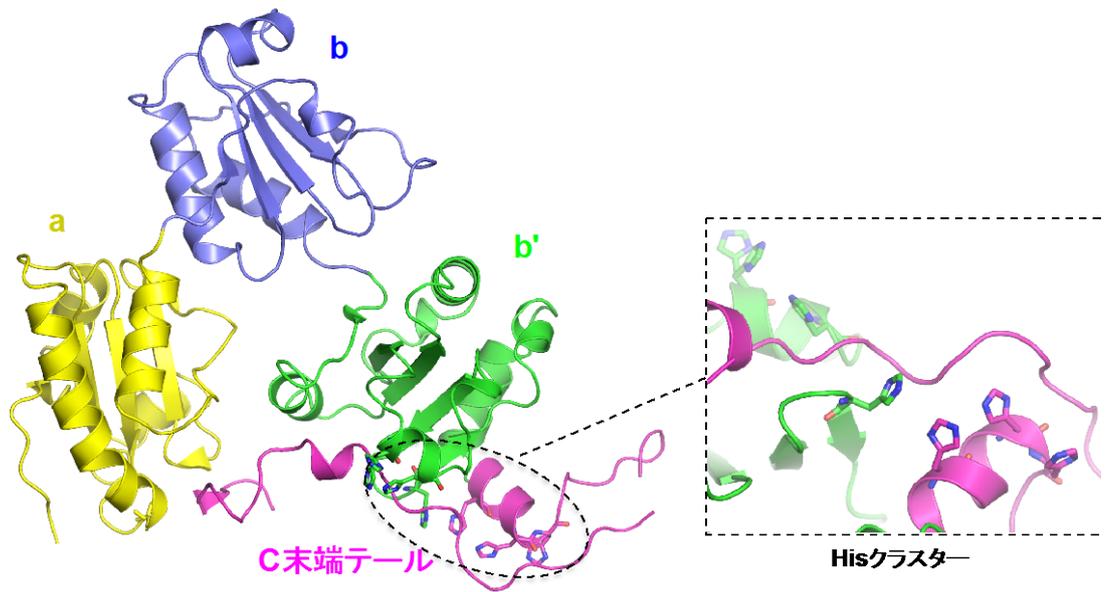


図2 ERp44 の立体構造
ERp44 は、三つのチオレドキシソドメイン(a, b, b')およびC末端テール領域で構成されている。今回の構造解析によって、C末端テール根元に存在するヒスチジン残基が集中した His クラスターの詳細な立体配置が明らかになった。

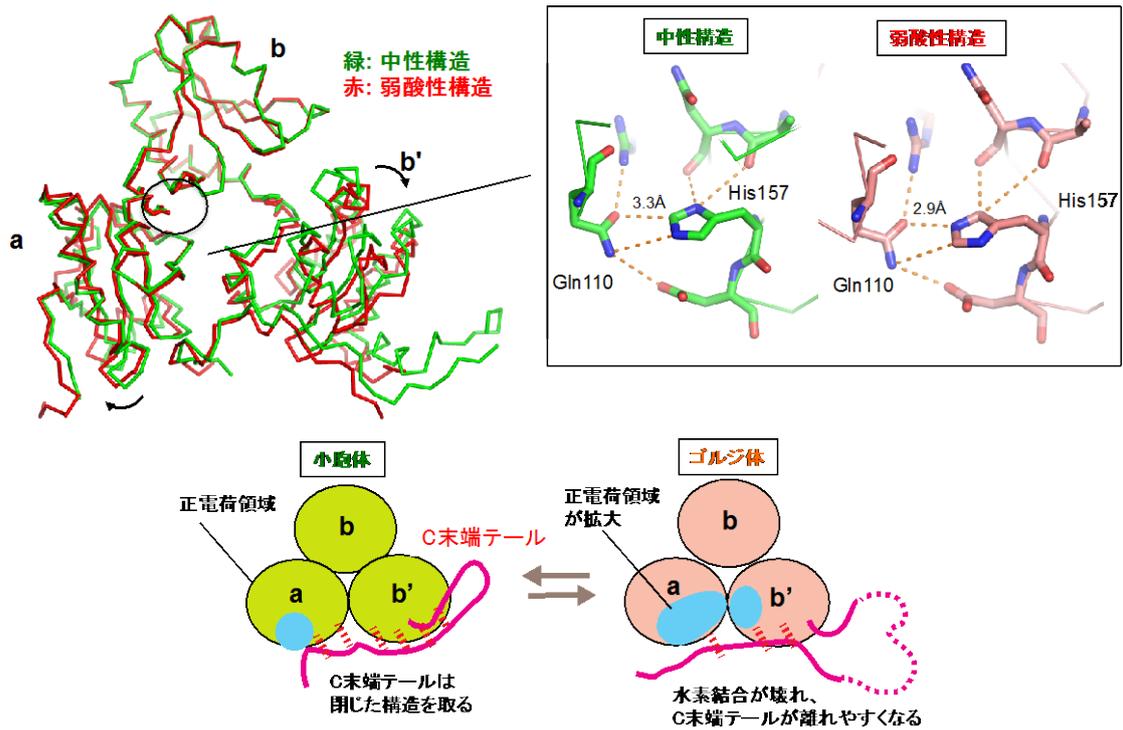


図3 pH 依存的な ERp44 の構造変化

構造比較の結果、弱酸性条件下では、ドメイン間の相互作用に関わるヒスチジン 157 のプロトン化によって、ERp44 の 3 つの チオレドキシソドメインの相対配置が変化していることが分かった(上図)。その結果、基質との結合に関わるとされる正電荷を帯びた領域が大きく露出することが明らかになった(下図)。