

突起膜形成のタンパク質構造基盤

Structural analyses of the proteins that generate membrane protrusion

伊藤弓弦^{1,*}, 末次志郎¹¹ 東京大学分子細胞生物学研究所, 〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1Yuzuru Itoh^{1,*} and Shiro Suetsugu¹¹Institute of Molecular and Cellular Biosciences, the University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0032, Japan

1 はじめに

細胞膜や内膜に結合し、膜を変形させるタンパク質ドメインとして BAR ドメイン群 (N-BAR、F-BAR、I-BAR) が注目されている。これらは共通して三日月状の立体構造をとり、細胞の内側から膜に結合して、立体構造に応じた曲率で膜を変形させ、陥入構造や突起構造を形成する (図 1)。BAR ドメイン群のうち、N-BAR ドメインと F-BAR ドメインがクラスリン被覆ピット等の陥入構造の形成を担い、I-BAR ドメインがフィロポディア等の突起構造の形成を担う。

ヒトは 70 種類以上の BAR ドメインタンパク質を有しているが、I-BAR ドメインを持つタンパク質は 3 種類しか存在しない。そのため、I-BAR ドメインだけでは多様な細胞突起構造に対応しきれないと考えられている。実際、F-BAR ドメインを持つタンパク質である srGAP と GAS7 は、他の F-BAR ドメインタンパク質と異なり、細胞突起を誘導することが報告されている [1] [2]。また、N-BAR ドメインタンパク質である Pick1 も神経突起の形成に関与するため [3]、突起膜形成を担う可能性がある。

本課題では、細胞突起を誘導するタンパク質の結晶構造解析を行い、F-BAR または N-BAR でありながら突起膜を形成するメカニズムの解明を目指した。

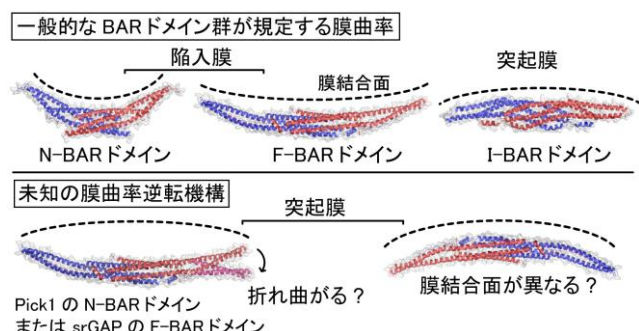


図 1 : BAR ドメイン群が規定する膜曲率

2 実験

Pick1, srGAP, GAS7 を大腸菌内で発現させて精製し、結晶化を試みた。得られた結晶を BL-5A、

BL-17A、NE3A、NW12A において、X 線回折実験を行った。

3 結果および考察

Pick1 は、全長および N-BAR ドメイン断片の発現と精製は成功したが、結晶を得ることはできなかった。

srGAP は、ヒトに存在する 4 つのパラログのうち、3 つの発現、精製、結晶化を試みた。srGAP は N 末端側に F-BAR ドメイン、中央に GAP ドメイン、C 末端側に SH3 ドメインを持っている (図 2)。F-BAR ドメインのみ、F-BAR ドメインと GAP ドメインを含む領域、F-BAR ドメインから SH3 ドメインまでの領域をそれぞれ発現させ、精製することができた。それらの結晶化を試みたところ、srGAP3 の F-BAR ドメインのみ結晶化に成功した (図 3)。しかしながら、結晶が小さかったため回折データを収集することはできなかった。結晶の大型化を試みているが今のところ成功していない。今後も結晶化条件の検討を続け、構造決定に十分な回折データの収集を目指す。

GAS7 は N 末端側に SH3 ドメイン、C 末端側に F-BAR ドメインを持つタンパク質である。全長と F-BAR ドメイン断片の発現、結晶化を試みたところ、どちらも比較的大型の結晶を得ることができた (図 3)。また、位相決定のためのセレノメチオニン置換体の結晶化にも成功している。2012 年度では回折データを収集できなかったが、今後、構造決定に成功する可能性は高いと考えている。

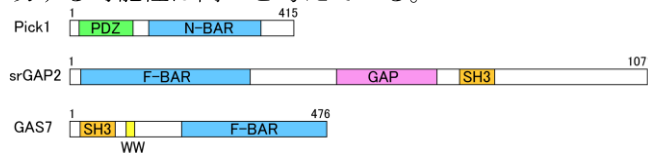


図 2 : ドメイン構成

4 まとめ

課題の有効期間中に構造決定することはできなかったが、今後、構造決定に成功する可能性が高いと思われる。

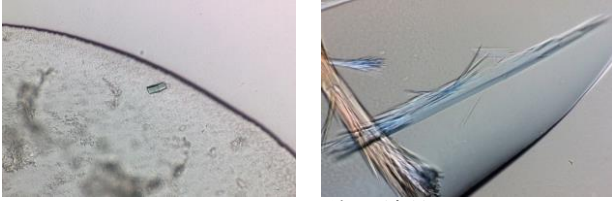


図3 : F-BAR ドメイン断片の結晶
(左 : srGAP3、右 : GAS7)

参考文献

- [1] S. Guerrier *et al.*, *Cell* **138**, 990 (2009).
- [2] J. You *et al.*, *J. Biol. Chem.* **285**, 11652 (2010).
- [3] D. Rocca *et al.*, *Nat. Cell. Biol.* **10**, 259 (2008).

* yuzuruitoh@iam.u-tokyo.ac.jp