

セラミド選別輸送タンパク質 CERT START ドメインと脂質の複合体の結晶構造解析

○工藤紀雄¹、熊谷圭悟²、富重斉生²、山地俊之²、若槻壮市¹、
西島正弘²、花田賢太郎²、加藤龍一¹

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・構造生物学研究センター¹、
国立感染症研究所・細胞化学部²

小胞体で合成される脂質セラミドは、ゴルジ体へ輸送され、そこで主要膜リン脂質の一つであるスフィンゴミエリンへ変換される。脂質の生合成と選別輸送は膜生合成に不可欠であり、脂質の選別は厳密に制御されている。CERT は、セラミド特異的細胞内輸送タンパク質として同定された約 70 kDa の細胞質タンパク質である [1]。CERT の C 末約 250 残基の START (steroidogenic acute regulatory protein-related lipid transfer) ドメインがセラミドを脂質膜から特異的に引き抜き、膜間転移を行うことが明らかにされている [1, 2]。

これまでに、我々は CERT START ドメインの単体(アポ体)の結晶構造、および セラミド複合体の結晶構造を決定している(1.4 - 2.2 Å 分解能) [3, 4]。その結果、CERT START ドメインの中心部には疎水性残基が形成する長いキャビティがあり、ここに 1 分子のセラミドが保持していることが明らかになった。また、キャビティ深部に位置する 4 つの極性残基がセラミドのアミド基、水酸基と水素結合を形成し、セラミド認識に関与していることが予想された。さらに分子表面にある 2 つのトリプトファン残基が膜との相互作用に重要であることが予想された。これらの残基を改変した変異体を用い、セラミド輸送活性を測定したところ、輸送活性に違いが見られた。

また、CERT はセラミド輸送活性の 5% 程度のジアシルグリセロールを輸送する活性を持つ [2]。そこで、セラミドとジアシルグリセロールの脂質認識の違いを詳細に検討するために、CERT START ドメインとジアシルグリセロール複合体の結晶構造を 1.8 Å 分解能で決定した [4]。その結果、ジアシルグリセロールもセラミドと同様にキャビティ内部に保持されていたが、その認識はセラミドとは異なる残基の組み合わせによることが明らかとなった。

Reference [1] Hanada *et al.* (2003) *Nature* **426**, 803, [2] Kumgai *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* **280**, 6488, [3] Kudo *et al.* (2006) 第 23 回 PF シンポジウム [4] Kudo *et al.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 488,