

細胞内小胞輸送を制御する AP-1 複合体および GGA 蛋白質の
アクセサリ蛋白質選別に関する構造生物学的研究

○神山淳一¹、山田悠介²、井上道雄²、川崎政人²、
加藤龍一²、中山和久³、若槻壮市²

総合研究大学院大学・高エネルギー加速器科学研究科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²、
京都大学大学院・薬学研究科³

真核生物の細胞には生体膜で構成された膜組織が存在し、それら細胞小器官の間では膜輸送が行われている。トランスゴルジ網とエンドソームの間ではクラスリン被覆小胞と呼ばれる輸送小胞を介した膜輸送が行われているが、その小胞形成には AP-1 複合体および GGA 蛋白質が関与することが知られている。

AP-1 複合体の γ アダプチンの ear (γ 1-ear) ドメインと GGA 蛋白質の GAE ドメインの GAE ドメインは、クラスリン被覆小胞に様々な機能を付加するアクセサリ蛋白質群の認識モチーフ ([W/F]xx ϕ : ϕ は疎水性アミノ酸残基) を認識し、取り込みを行っている。両者には高い配列相同性があるのにも関わらず、相互作用するアクセサリ蛋白質に特異性が存在する。本研究では、 γ 1-ear ドメインの Ser764 が認識モチーフ外の Phe と相互作用しており、このアミノ酸残基が GAE ドメインでは Pro に置換されていることに着目し研究を行った。

γ 1-ear ドメインの GAE 型変異体 (S764P) と γ -synergyn ペプチドとの複合体結晶構造を 2.58 Å 分解能で、GGA1-GAE ドメインの γ 1-ear ドメイン型変異体 (P574S) と p56 ペプチドとの複合体結晶構造を 1.90 Å 分解能で決定した。さらに表面プラズモン共鳴を用いて、 γ 1-ear ドメインと GAE ドメインのそれぞれの野生型および変異体と、アクセサリ蛋白質 (γ -synergyn、EpsinR、Rabaptin-5、p56) ペプチドとの親和性の測定を行った。

これらの結果を基に、 γ 1-ear ドメインの S764 と GAE ドメインの P574 の違いが引き起こす AP-1 複合体と GGA 蛋白質のアクセサリ蛋白質認識特異性について考察を行った。