

## $\gamma$ -アダプチン ear ドメインの立体構造に基づいた小胞輸送制御機構の解析

禾晃和<sup>1,2</sup>、芝陽子<sup>3</sup>、川崎政人<sup>1</sup>、志波智生<sup>1,4</sup>、松垣直宏<sup>1</sup>、五十嵐教之<sup>1</sup>、鈴木守<sup>1</sup>、  
加藤龍一<sup>1</sup>、高津宏之<sup>3,5</sup>、中山和久<sup>3,6</sup>、若槻壮市<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 高エネ研・物構研・構造生物グループ、<sup>2</sup> (現) マックスプランク生物物理学研究所、  
<sup>3</sup> 筑波大・生物系、<sup>4</sup> 国際科学振興財団、<sup>5</sup> (現) 理研・免疫アレルギー研、<sup>6</sup> (現) 金沢大・薬

### Structural basis for the accessory protein recruitment by the $\gamma$ -adapting ear domain

Terukazu NOGI<sup>1,2</sup>, Yoko SHIBA<sup>3</sup>, Masato KAWASAKI<sup>1</sup>, Tomoo SHIBA<sup>1,4</sup>,  
Naohiro MATSUGAKI<sup>1</sup>, Noriyuki IGARASHI<sup>1</sup>, Mamoru SUZUKI<sup>1</sup>, Ryuichi KATO<sup>1</sup>,  
Hiroyuki TAKATSU<sup>3,5</sup>, Kazuhisa NAKAYAMA<sup>3,6</sup>, Soichi WAKATSUKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Photon Factory (PF), Institute of Materials Structure Science, KEK, <sup>2</sup>Present address: Max-Planck-Institut fuer Biophysik, <sup>3</sup>Institute of Biological Sciences and Gene Research Center, University of Tsukuba, <sup>4</sup>Foundation for Advancement of International Science (FAIS), <sup>5</sup>Present address: Research Center for Allergy and Immunology, RIKEN, <sup>6</sup>Present address: Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University

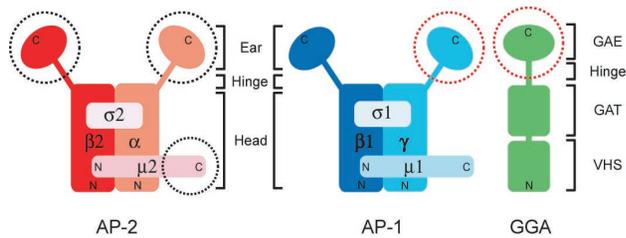
#### 1. はじめに

ヒトを初めとする真核生物の細胞は多岐にわたる生命活動を整然と行うために、細胞内小器官を高度に発達させている。それぞれの細胞内小器官は固有の役割を持っており、例えば、核は遺伝情報の担い手である DNA を管理し、ミトコンドリアはエネルギーの生産を行い、ゴルジ体は新しく合成されたタンパク質の品質管理を行っている。このように細胞内小器官を持つ真核細胞においては、それぞれの細胞内小器官へ正確に生体物質を送り届ける機構が発達しており、この機構を細胞内輸送または小胞輸送と呼ぶ。クラスリン被覆小胞を介した輸送現象はその代表例であり、エンドサイトーシスと呼ばれる細胞内への物質の取り込みや分泌タンパク質の細胞内輸送などに関与している。クラスリン被覆小胞を介した小胞輸送は神経における情報伝達などにも関わっており、この輸送系に異常が起きると神経の麻痺など様々な疾患が引き起こされる。従って、小胞輸送現象を理解することは、生物学的に興味深いだけでなく医学的な見地からも重要である。

クラスリン被覆小胞は、細胞膜やゴルジ体膜などの構造が変化して形成される小胞である。クラスリン被覆小胞の形成には、被覆タンパク質のクラスリン以外にも多くのタンパク質が関与しているが、その中で最も重要なものとしてアダプタータンパク質が挙げられる [1,2]。アダプタータンパク質として、AP 複合体ファミリーと GGA タンパク質ファミリーの二つのグループが知られており、ヒトには 4 種類の AP 複合体と 3 種類の GGA タンパク質が現在見いだされている [3-7]。これらのアダプタータンパク質のうち、AP 複合体ファミリーの AP-1 複合体は、トランスゴルジ網とエンドソームの間の小胞輸送に関与している [8]。AP-1 複合体は、 $\beta 1$ ,  $\gamma$ ,  $\mu 1$ ,  $\sigma 1$  という 4 つのサブユニットから構成されており、これらのサブユニットはアダ

プチンと呼ばれている。AP-1 複合体の機能は多岐にわたっており、(1) 小胞形成の開始を知らせる信号を認知し、(2) 小胞の被覆になるクラスリンを膜の上に集め、(3) 小胞の積荷になるタンパク質を引き寄せて小胞内へ誘導する、という役割を担っている。実際には、小胞形成はより複雑な反応であり AP-1 複合体以外にも多くの制御タンパク質が関与しているが、そのような制御タンパク質が小胞に集まって来る際にも、AP-1 複合体が誘導役を担っていると考えられている。AP-1 複合体を構成する上記の 4 つのアダプチンは、このように多岐にわたる AP-1 複合体の機能を分担しており、例えば、 $\mu 1$ -アダプチンは積荷の輸送シグナルと、 $\beta 1$ ,  $\gamma$ -アダプチンの N 末端ドメインは小胞形成の開始信号として働くタンパク質の ARF と、 $\beta 1$ -アダプチンの C 末端ドメインは被覆タンパク質のクラスリンと、そして、 $\gamma$ -アダプチンの C 末端ドメインは制御タンパク質と、それぞれ相互作用すると考えられている。また、AP-1 複合体を電子顕微鏡で観察すると、ミッキーマウスの頭のように、球状のコアの部分から二つ耳が突き出したような構造に見える。この耳に見える部分は、 $\beta 1$ ,  $\gamma$ -アダプチンの C 末端領域に対応しており、それぞれ、 $\beta 1$ -ear ドメイン、 $\gamma$ -ear ドメインと呼ばれている (Fig. 1)。

今回、我々は AP-1 複合体の  $\gamma$ -ear ドメインについて、その立体構造に基づく機能解析を行った。上述のように、 $\gamma$ -ear ドメインは制御タンパク質の誘導役を担っているが、これまでの生化学的な解析から、 $\gamma$ -synergine や Rabaptin-5 という制御タンパク質と相互作用することが示されていた [9-11]。しかしながら、その詳細な相互作用機構は未知であり、 $\gamma$ -ear ドメインのどの部分が制御タンパク質と相互作用するか、そしてどのような引力が  $\gamma$ -ear ドメインと制御タンパク質の間に働いているか、などについては明らかではなかった。本研究では、まず X 線結晶構造解析によっ



**Figure 1**  
Schematic diagrams of AP1, AP2 complexes and GGA.

て $\gamma$ -ear ドメインの立体構造を決定し、その構造情報に基づいて $\gamma$ -ear ドメインと制御タンパク質の相互作用機構を推定し、その確認の実験を行った [12]。

## 2. 実験

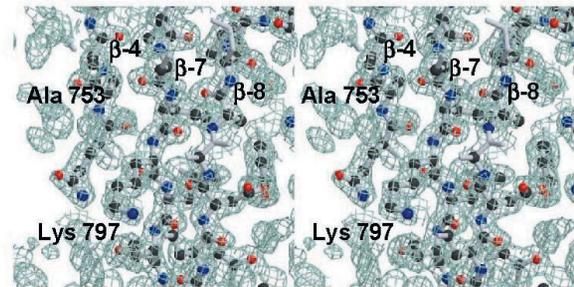
### 2.1 タンパク質の発現と精製

$\gamma$ -ear ドメインのタンパク質試料は、大腸菌内で大量発現させた。ヒト由来の $\gamma$ -アダプチン自体は 822 残基のアミノ酸からなる大きなタンパク質であるが、このうち C 末端の $\gamma$ -ear ドメインに対応する部分の遺伝子断片を取り出し、大腸菌内でタンパク質を発現させる系を構築した。立体構造が決定されていない段階では、 $\gamma$ -アダプチンの何番目から何番目までのアミノ酸残基が $\gamma$ -ear ドメインに当たるかを正確に判定するのは難しく、どの部分を取り出すかについても試行錯誤しなければならなかった。 $\gamma$ -ear ドメインの場合、ドメインの境界と考えられていた部分よりも長めに遺伝子を切り出すことで、タンパク質の大量発現に成功した。 $\gamma$ -ear ドメインの該当する部分をグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合タンパク質として、大腸菌内で発現、精製後、プロテアーゼでグルタチオン-S-トランスフェラーゼ部を切断除去し、 $\gamma$ -ear ドメインのみを結晶化に用いた。

### 2.2 結晶構造解析

結晶化条件の検索はハンギングドロップ蒸気拡散法によって行った。結晶化条件の検索においては、溶液の pH や沈殿剤試薬の種類、濃度などが重要なパラメータになるが、結晶化を行う温度も大きな影響を与える。この $\gamma$ -ear ドメインの場合、20℃では結晶が得られず、4℃という低温下で結晶化を行った場合のみ結晶が得られた。結晶化条件最適化の結果、20% (w/v) PEG 4000 と 200 mM MgCl<sub>2</sub> を結晶化剤とした条件で、X線回折実験に使用可能な結晶が得られた。

X線回折データの収集には、高エネ研 (KEK) 放射光研究施設 (PF) の BL-6A, 18B を初めとするシンクロトン放射光を用いた。電子密度の計算を行うための位相は、金誘導体を用いた重原子同型置換法とセレンメチオニン含有タンパク質を用いた多波長異常分散 (MAD) 法の両方を適用することにより決定した。特に、PF・BL-6A においては波長変更の容易にできる新しい実験架台を設置後に最初の MAD 法によるデータ収集を行った。重原子同型置換法

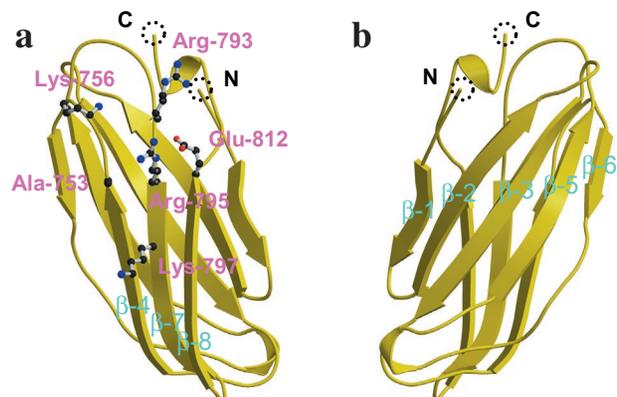


**Figure 2**  
Stereo view of an initial electron density map from SIRAS phasing. The electron density map around Ala753 and Lys797 is contoured at 1.0  $\sigma$ . The refined model of the  $\gamma$ 1 ear domain is superimposed on the map. Water molecules are excluded for clarity.

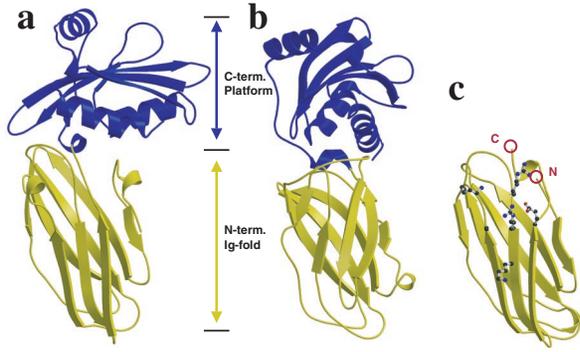
においては、1.8Å 分解能までの位相を決定することが出来たことから、初期電子密度も良好で、タンパク質分子の骨格に当たる部分の構造はモデル構築用のプログラムで自動的に組むことも可能であった。大まかな構造をプログラムで決定した後、コンピューターグラフィックス上で電子密度とモデルの重なりを見ながら分子モデルを補正し、続いて分子動力学計算を利用しモデルの精密化を行った。最終的に 1.8 Å 分解能で結晶構造を決定した (Fig. 2)。構造精密化には、 $R_{\text{merge}}$  が 6.4 %、データの完全性が 99.2 % の回折データを用い、精密化後の結晶学的 R 値は 22.6 % となった。

### 2.3 変異タンパク質の作製とその解析

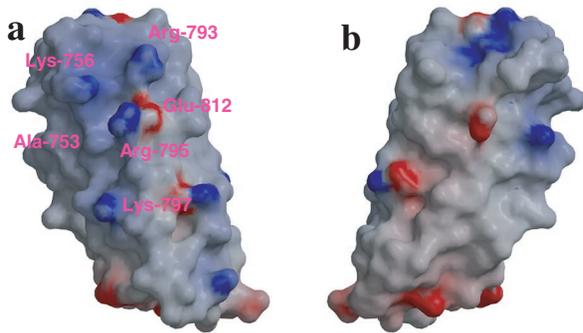
タンパク質中のどのアミノ酸残基が生理的な機能に寄与しているかを調べる際には、変異体解析が頻繁に用いられる。本研究では、 $\gamma$ -ear ドメインの塩基性アミノ酸残基を他の性質の異なるアミノ酸に置き換えた変異体を作り、その変異体が制御タンパク質と結合するかどうかを調べた。変異体と制御タンパク質の結合能の分析は Yeast two-hybrid 法と GST pull down 法という二つの手法によ



**Figure 3**  
Ribbon diagram of the  $\gamma$ 1-adaptin ear domain. The immunoglobulin-like  $\beta$ -sandwich fold of the  $\gamma$ 1 ear domain is composed of eight  $\beta$ -sheets. Two  $\beta$ -sheets of the sandwich folds are composed of strands  $\beta$ 4,  $\beta$ 7 and  $\beta$ 8 in **a** and strands  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3,  $\beta$ 5 and  $\beta$ 6 in **b**. The key residues in the accessory protein recruitment are highlighted with ball-and-stick models. The N- and C-termini of each structure are indicated by the dotted circles.



**Figure 4**  
Structures of the  $\alpha$ -adaptin ear,  $\beta$ 2-adaptin ear and  $\gamma$ 1-adaptin ear domains. **a**, Ribbon diagram of the mouse  $\alpha$ -adaptin ear domain (PDB entry 1B9K). **b**, Ribbon diagram of the human  $\beta$ 2-adaptin ear domain (PDB entry 1E42). **c**, Ribbon diagram of the human  $\gamma$ 1-adaptin ear domain (this work).



**Figure 5**  
Electrostatic surface potential of the  $\gamma$ 1-adaptin ear domain. The molecular surface prepared by GRASP is shown in the same orientation in Fig. 3. A large basic surface consists of the conserved residues around the C-terminus of strand  $\beta$ 4 and N-terminus of strand  $\beta$ 7. The GST pull-down assays in Fig. 7 have indicated that the basic surface serves as the binding sites for  $\gamma$ -synergins and Rabaptin-5.

	$\beta$ -1	$\beta$ -2	$\beta$ -3	$\beta$ -4	$\beta$ -5
$\gamma$ 1/human	700 I A A G I P S I T A Y S K N G L K I E F T F E R S	N T N P S V T V I T I Q A S N S T E L D M T D F V F C A A V P K	T F Q L Q L S	764	
$\gamma$ 2/human	653 P P A P I P D L K V F E R E G V Q L D L S F I R P	P E N P A L L I T I T A T N F S E G D T H F I C A A V P K	S L Q L Q A	727	
$\gamma$ 1/mouse	700 I A P G I P S I T A Y S K N G L K I E F T F E R S	N T N P S V T V I T I Q A S N S T E L D M T D F V F C A A V P K	T F Q L Q L S	764	
$\gamma$ 2/mouse	669 P P A P I P S V R V F E R E G L Q L D L S F M R P	L E T P A L L V T A T T N S S K E D V T H F V C A A V P K	S F Q L Q L A	733	
$\gamma$ plant	754 N G P A Y A P I V A Y E S S L K I E F T F S K T	P G N L Q T T N V Q A T F T N L S P N T F T D F I F C A A V P K	F L Q L H L D P	818	
$\gamma$ yeast	718 V T L P L D A N K I Y D S S L N V Y A S L L S A	N S G L A H L D L Y F Q A K S L I S D L K T F C A V P A Q K L T E G Q L Y	780		
$\gamma$ fungus	738 A S T V A K S H V Y T K N G L K I T L T P T T N	P A R P E I V H I T A R F T S A T S A S N I N F R A A V P K H K L Q G A I S	803		
GGA1/human	508 K P S N I L P V T V Y D Q H G F R L F H F A R D P L P G R S D V L V V V M S L T A P O P I R N I V F C A A V P K	V M K V K L Q P	574		
GGA2/human	482 K P S S L P P L I V Y D R N G F R L L H F S Q T G A P G H P E V Q V L L T M M S T A P P W D I M F C A A V P K	S M R R V K L Q P	548		
GGA3/human	592 K P S S L P V T A Y D K N G F R L F H F A K E C P P R P D V L V V V M S L N T A P L P K S I V L C A A V P K	S M K V K L Q P	758		
Gga1p/yeast	438 I T A Q S Q R H I L N Q S D H L R I D Y E L T R E	S M T K L R L V I F Y S N I S S D P I T N F A L L V A G P K	G T T S L Q P	500	
Gga2p/yeast	466 T T T A P A R T L V N Q S P N L R I E F E I S R E	S N S V I R I K S F F T N L S S S P I S N L V L F L A V P K	S M S L K L Q P	528	

	$\alpha$ -1	$\beta$ -6	$\beta$ -7	$\beta$ -8	$\alpha$ -2
$\gamma$ 1/human	765 P S S I V P A F N	T G T T T Q V I K V L N P Q	K Q L R M R I K L T Y N H K G S A M Q D L A E V N N F P P Q S W Q	822	
$\gamma$ 2/human	728 P G N T V P A R G	G L P T T O L F R I L N P N	K A P L R L R L T Y D H F H Q S V Q E I F E N N L P V E S W Q	785	
$\gamma$ 1/mouse	765 P S S V P A F N	T G T T T Q V I K V L N P Q	K Q L R M R I K L T Y N H K G S A M Q D L A E V N N F P P Q S W Q	822	
$\gamma$ 2/mouse	734 P G N T I P A G G	G L P T T Q V F R I L N P N	Q A P L R L R L T Y N H S G Q P V Q E I F E D N L P V E T W Q	791	
$\gamma$ plant	819 A N S N T I P A S G	S G A I T Q V L R V T N S Q G G	K K S L V M R R I G Y K L N G K D V L E E G Q V S N F P R G L	876	
$\gamma$ yeast	781 P S S T I N A	S Q I C K Q S L K I S G S G	K L K L R V K L D F H L N G S S I T N E Q F D H K F D E T L	832	
$\gamma$ fungus	804 N T F	V H P D S T E T O P L R V M V P P	K A A V R L R I A F Q V D G H S V Q Q T D W A Q P S A	853	
GGA1/human	575 P G T E T P A F N P I V M P S A T I T Q V L L L A N P Q	K E K V L R K L T F F T M G Q T Y N E G Q T D Q F P P E T W G S L	639		
GGA2/human	549 A S S K I P A F S P L M P P A V I S Q M L L D A N P H	K E P I R L R K L T F N G G G Q P F S E V G E K D F P P D L A V L G A A	613		
GGA3/human	759 P G T E L S P F S P I Q P P A A I T Q V M L L A N P L	K E K V R L R K L T F A L G E Q L S T E V G E D D F P P E V Q W G N L	723		
Gga1p/yeast	501 Q G N M L Q S N S	R D G K Q I A S V E G I S V N L K P I K L W K K A N Y C T G K D S K E S G T T S L P T I	557		
Gga2p/yeast	529 Q S N F M I G N A	K D G S Q E G T I E N A P A N P S K A L K V K W K V N Y S V N S T Q A E T A V F T L P N V	585		

**Figure 6**  
Amino acid sequence alignment of year and GAE from GGA. The numbering for the human  $\gamma$ 1 ear domain follows the sequence data with accession ID: AB015317 in GenBank/EBI/DBJ database. In this sequence, the total number of amino acid residues is 822. In human and mouse,  $\gamma$ 2-adaptin has been found in addition to  $\gamma$ 1-adaptin. The sequences indicated as plant, yeast, and fungus correspond to those of *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Ustilago maydis*, respectively. The diagram above the sequences depicts the secondary structures of the human  $\gamma$ 1 ear domain. The residues conserved among at least 9 out of 12 sequences are colored in red for identity, and in pink for similarity. In addition, the residues in the vicinity of the highly conserved basic cluster, as shown in Fig. 5, are highlighted in blue. Triangles on the sequences indicate the residues of which the point mutations were shown to abolish the interaction with  $\gamma$ -synergins and Rabaptin-5 in yeast two-hybrid screen; the red triangles for the residues buried in the core of the  $\gamma$ 1 ear molecule, and blue for the exposed residues. In addition, the green triangles indicate the additional point mutants that were designed for GST pull-down assays, on the basis of the structural data.

を行った。Yeast two-hybrid法は、二つのタンパク質を酵母細胞の中で発現させ、細胞内での結合を見るものである。もし二つのタンパク質が結合していれば酵母細胞が青く染まる。GST pull down法は、細胞から取り出したタンパク質同士を試験管内で結合させる方法であり、電気泳動で分析して結合したかどうかを検定する。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 AP-1複合体の $\gamma$ -earドメインの立体構造と分子表面の電荷状態

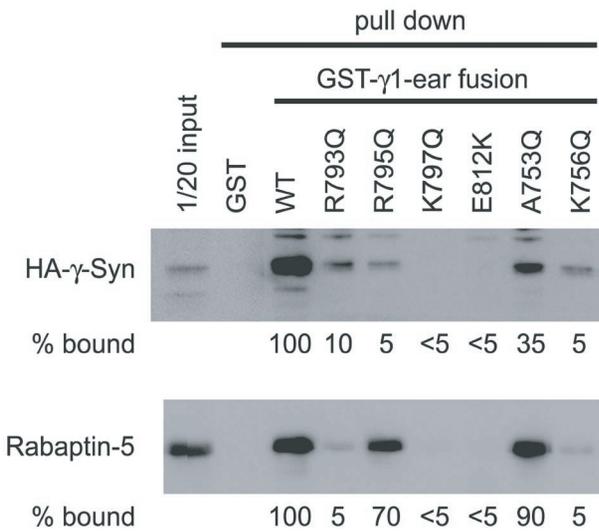
構造解析の結果、 $\gamma$ -earドメインは8本の $\beta$ -ストランドからなる $\beta$ -サンドウィッチ構造を形成していることが分かった (Fig. 3)。この構造は抗体の立体構造によく似ているため、イムノグロブリン構造と呼ばれる。機能が類似したタンパク質であるAP-2複合体の $\alpha$ -earドメインや $\beta$ -earドメインなどでは、 $\beta$ -サンドウィッチ構造に続いてさらにC末端側に $\alpha$ -ヘリックスと $\beta$ -シートが混在したプラットフォーム構造が存在していることが構造解析により分かっていた (Fig. 4) [13-15]。制御タンパク質の誘導にはプラットフォーム構造が重要であると報告されているため、今回決定した $\gamma$ -earドメインが $\beta$ -サンドウィッチ構造のみからなるということは驚きであった。

このようにプラットフォーム構造がない $\gamma$ -earドメインにおいては、 $\beta$ -サンドウィッチ構造上のどこかに制御タンパク質の認識部位がなければならぬ。制御タンパク質を効率よく引き寄せるため、制御タンパク質と相互作用する領域は電荷分布の偏りなどの特徴が現れているはずである。そこで、認識部位となり得る特徴的な領域を検索するために、決定した結晶構造に基づいて静電ポテンシャルを計算し分子表面の荷電状態の可視化を行った (Fig. 5)。そ

の結果、4番目と7番目のβ-ストランド周辺の塩基性アミノ酸残基、Lys-756, Arg-793, Arg-795, Lys-797が、大きな塩基性領域を形成していることが明らかになった。また、データベースに登録されているアミノ酸配列を比較したところ、これらの塩基性残基はヒト以外の様々な生物種由来のγ-earドメインの間でも保存されているということが分かった (Fig. 6)。機能上重要なアミノ酸残基は進化の過程でも変化せず、異なる生物種の間でも保存されていることが多い。我々は、この塩基性の正電荷を持った領域が制御タンパク質を引き寄せるのに働いているのではないかと推論し、さらに次のような実験を行ってこれを確認する事を試みた。

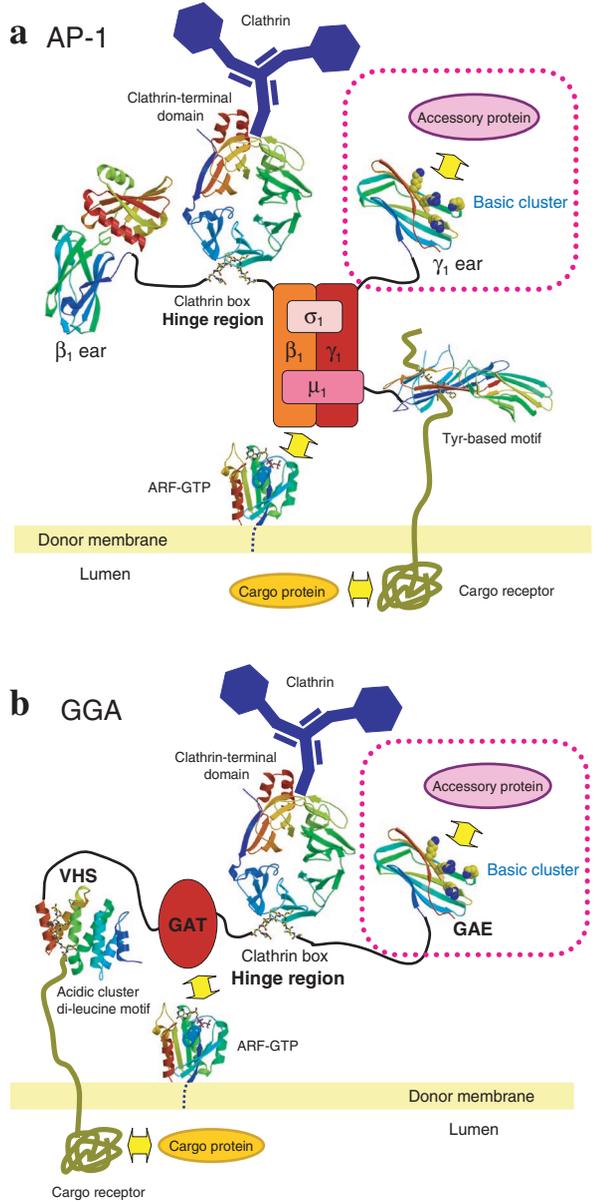
3.2 変異体解析

上記の塩基性領域を形成しているアミノ残基 (Lys-756, Arg-793, Arg-795, Lys-797) を中性のアミノ酸残基 Gln (グルタミン) に置き換えた変異体を作製した。もし仮にγ-earドメインと制御タンパク質が静電的な引力で結合しているとするならば、正電荷を持つ塩基性残基を電荷を持たないGln残基へと置き換えることによって、タンパク質同士の結合能が弱まることが期待される。実際にGST pull down法を用いて、それぞれの変異体の制御タンパク質に対する結合能を、γ-synergin と Rabaptin-5の両方に対して調べたところ、いずれの場合も結合能が著しく低下するというこ



**Figure 7** Interaction between γ1-adaptin ear domain and γ-synergin or Rabaptin-5 studied by pull-down assays. Lysates from hEK-293 cells transfected with HA-tagged γ-synergin (HA-γ-Syn) were pulled down with GST or GST fused to wild type (WT) γ1-adaptin ear domain or its mutant and subjected to immunoblotting with anti-HA or anti-Rabaptin-5 antibody. GST and WT are the negative and positive control, respectively. The estimated band density of HA-γ-synergin or Rabaptin-5 pulled down with GST-γ1-ear (WT) is expressed as 100%. In the far left lane, one-twentieth volume of the lysate subjected to pull down was directly electrophoresed. Structural integrity of the six mutants was confirmed by measuring the circular dichroic (CD) spectra of the proteins after their GST portions were cleaved with thrombin. Their CD spectra were almost identical, suggesting that they share a secondary structure similar to that of the wild type (data not shown).

とが分かった (Fig. 7)。また、これらのアミノ酸残基を取り囲む位置にあるAla-753やGlu-812などのアミノ酸残基に変異を導入した場合も、結合が弱まることが分かった。一方、これら塩基性領域近傍のアミノ酸残基以外にもランダムに変異を導入し、その変異体についてYeast two-hybrid法を用いて結合の有無を調べたが、著しく結合能が低下したものは見られなかった (データは省略)。以上の結果は我々の仮定を強く支持するものであり、γ-earドメインが4番目と7番目のβ-ストランド周辺の塩基性分子表面を介して、制御タンパク質と結合するということが明らかになった。



**Figure 8** Current models of the AP-1 complex and GGA. **a**, In AP-1 complex, two ear domains (β1- and γ1-adaptins) may interact with accessory proteins. The β1-adaptin hinge region binds the clathrin N-terminal domain whereas the Tyr-based motif of μ1-adaptin recognizes cargo receptors. **b**, The GAE ear domain of GGA uses its basic cluster to interact with accessory proteins. The VHS domain of GGA recognizes cargo receptors and the hinge region binds the N-terminal region of clathrin, which may act as a trigger of the formation of a clathrin cage.

### 3.3 AP 複合体ファミリーと GGA タンパク質ファミリーにおける ear ドメイン

AP 複合体が4つのアダプチンが集まって出来上がっているのとは対照的に、GGA タンパク質は1種類のポリペプチド鎖のみから成っている。つまり、AP 複合体と GGA タンパク質は根本的に異なった構造を取っていると言えるが、唯一共通しているのが  $\gamma$ -ear ドメインの存在である (Fig. 1)。GGA タンパク質は4つのドメインからなる一本鎖のタンパク質であるが、そのC末端側には  $\gamma$ -ear ドメインとアミノ酸配列の相同性が高い GAE ドメインがある。この GAE ドメインは、生理的な役割の上でも、 $\gamma$ -ear ドメインと相同性があるとされ、 $\gamma$ -synergин と Rabaptin-5 と結合することもごく最近明らかになった。また、上述の塩基性残基についても良く保存されており、GAE ドメインも  $\gamma$ -ear ドメインと同様に  $\beta$ -サンドウィッチ構造を取り、大きな塩基性領域を分子表面上に持っているという可能性が非常に高い。このように、今回の我々の解析結果は、未だ立体構造が決定されていない GGA タンパク質ファミリーの GAE ドメインの構造についても示唆を与えるものである (Fig. 8b)。

### 4. まとめ

以上のように、今回の我々の結晶構造解析と構造情報に基づく生化学的解析の結果から、 $\gamma$ -ear ドメインが塩基性の領域を利用して、制御タンパク質と相互作用しているということが明らかになった。一方、制御タンパク質のうち  $\gamma$ -synergин には、酸性に偏った特徴的な領域があることも分かっており、 $\gamma$ -ear ドメインと  $\gamma$ -synergин が塩基性と酸性、つまり正電荷と負電荷の静電的引力によって相互作用しているのではないかとすることも予測される。しかしながら、これを確かめるためには、さらなる生化学的な分析や  $\gamma$ -ear ドメインと  $\gamma$ -synergин の複合体の結晶構造解析などを行う必要がある。現在、そのような実験も進行中であり、 $\gamma$ -ear ドメインによる制御タンパク質の誘導機構をより詳細に明らかに出来ることを期待している。

### 引用文献

- [1] Kirchhausen, T. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **15**, 705-732 (1999)
- [2] Boehm, M. & Bonifacino, J. S. *Mol. Biol. Cell* **12**, 2907-2920 (2001)
- [3] Boman, A. L., Zhang, C., Zhu, X. & Kahn, R. A. *Mol. Biol. Cell* **11**, 1241-1255 (2000)
- [4] Dell'Angelica, E. C. et al. *J. Cell Biol.* **149**, 81-94 (2000)
- [5] Poussu, A., Lohi, O. & Lehto, V. P. J. *Biol. Chem.* **275**, 7176-7183 (2000)
- [6] Takatsu, H., Yoshino, K. & Nakayama, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **271**, 719-725 (2000)
- [7] Costaguta, G., Stefan, C. J., Bensen, E. S., Emr, S. D. & Payne, G. S. *Mol. Biol. Cell* **12**, 1885-1896 (2001)
- [8] Meyer, C. et al. *EMBO J.* **19**, 2193-2203 (2000)
- [9] Page, L. J., Sowerby, P. J., Lui, W. W. & Robinson, M. S. *J. Cell Biol.* **146**, 993-1004 (1999)
- [10] Hirst, J. et al. *J. Cell Biol.* **149**, 67-80 (2000)
- [11] Shiba, Y., Takatsu, H., Shin, H. W. & Nakayama, K. *J. Biochem.* **131**, 327-336 (2002)

- [12] Nogi, T. et al. *Nature Struct. Biol.* **9**, 527-531 (2002)
- [13] Owen, D. J. et al. *Cell* **97**, 805-815 (1999)
- [14] Traub, L. M., Downs, M. A., Westrich, J. L. & Fremont, D. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 8907-8912 (1999)
- [15] Owen, D. J., Vallis, Y., Pearse, B. M., McMahon, H. T. & Evans, P. R. *EMBO J.* **19**, 4216-4227 (2000)

### 著者紹介

禾 晃和 (Terukazu NOGI)

マックスプランク生物物理学研究所・ポストドクトラルリサーチフェロー

Heinrich-Hoffmann-Str. 7, D-60528 Frankfurt/M, Germany

略歴：平成8年京都大学理学部卒業、平成10年京都大学大学院理学研究科修士課程修了、平成13年同博士後期課程修了、平成12年4月から平成13年3月まで理化学研究所ジュニアリサーチアソシエイト、平成13年4月から平成14年5月まで高エネ研・物構研・研究機関研究員、平成14年6月から現職。理学博士。

芝 陽子 (Yoko SHIBA)

筑波大・生物系・博士課程大学院生。

川崎 政人 (Masato KAWASAKI)

高エネ研・物構研・助手、理学博士。

志波 智生 (Tomoo SHIBA)

高エネ研・物構研・研究員、国際科学振興財団・研究員、薬学博士。

松垣 直宏 (Naohiro MATSUGAKI)

高エネ研・物構研・助手、理学博士。

五十嵐 教之 (Noriyuki IGARASHI)

高エネ研・物構研・助手、理学博士。

鈴木 守 (Mamoru SUZUKI)

高エネ研・物構研・助手、理学博士。

加藤 龍一 (Ryuichi KATO)

高エネ研・物構研・助教授、理学博士。

高津 宏之 (Hiroyuki TAKATSU)

理研・免疫アレルギー研・研究員、理学博士。

中山 和久 (Kazuhisa NAKAYAMA)

金沢大・薬学部・教授、医学博士。

若槻 壮市 (Soichi WAKATSUKI)

高エネ研・物構研・教授、Ph.D.