

提出日：平成 30 年 5 月 2 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	1 回膜貫通型受容体の構造動態解析に向けた試料調製		
研究代表者	氏名	禾 晃和	
	所属機関名・部局名	横浜市立大学・大学院生命医科学研究科	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	高木 淳一		
<p>本課題では、真核細胞の細胞表面に発現し、シグナル伝達や物質の取り込みを行う 1 回膜貫通型受容体を取り上げ、細胞外リガンドの認識の分子機構を解明することを目的として、動物細胞を用いたタンパク質試料の調製と構造機能解析に取り組んだ。以下に、脳神経の発生や脂質代謝に関わるアポリポタンパク質 E 受容体 2 (apolipoprotein E receptor2; ApoER2) に関する成果を詳しく述べる。</p> <p>脂質代謝に関わる低密度リポタンパク質受容体 (low-density lipoprotein receptor; LDLR) のホモログである ApoER2 は、LDLR と同様にリポタンパク質の細胞内への取り込みを行うとともに、神経細胞では細胞外シグナル分子リーリンと結合し、脳の層構造形成を制御するシグナル伝達を行う。本研究課題では、ApoER2 細胞外領域全長とリーリンの活性断片の複合体の X 線結晶解析を行うことで、ApoER2 によるリガンド認識機構の解明に取り組んだ。従来の研究から、ApoER2 は細胞外領域の N 末端領域に存在する 1 番目の LDLR tupe A (LA1) モジュールを介してリーリンの活性断片を認識することが明らかになっていたが、本研究から、LA1 の下流に存在する LA2 モジュールや epidermal growth factor (EGF) モジュールもリーリンとの相互作用に関わることが明らかになった。特に、LA2 モジュールの相互作用面には、pH 依存的に荷電状態が変化する His 残基が 2 つ存在しており、エンドサイトーシス過程でのリーリンの解離に寄与することが示唆された。また、リーリンと結合した ApoER2 細胞外領域全体のコンフォメーションは、コンパクトに縮んだ状態にあることが明らかになった。ApoER2 のホモログである LDLR は、細胞表面において伸びたコンフォメーションでリガンドと結合すると考えられてきたが、本研究の結果から、細胞表面におけるリガンド結合の様式の再検証が必要となった。これらの成果を踏まえ、本年度の研究では、受容体細胞外領域の構造変化についても解析を進めた。一連の成果をまとめた論文は、EMBO reports 誌に掲載され (Structural basis for ligand capture and release by the endocytic receptor ApoER2. Hirai H, Yasui N, Yamashita K, Tabata S, Yamamoto M, Takagi J, Nogi T. <i>EMBO Rep.</i> 18, 982-999, 2017)、総説記事も Biophysical reviews 誌に掲載が受理された。また、生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) 等において招待講演を行い、ApoER2 に関する上記の研究成果とその後の進展について発表した。</p>			