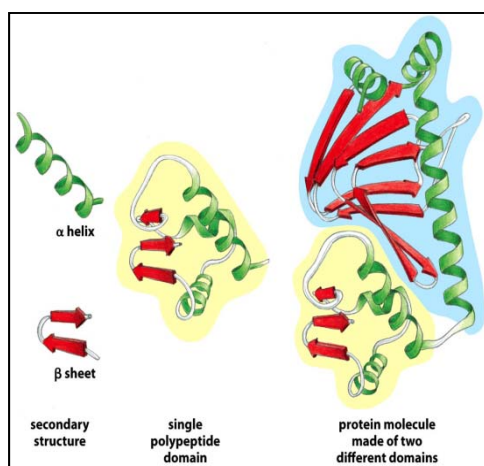


生体分子科学 (改訂 4c 版)

補足 タンパク質ドメイン超入門

1. タンパク質構造とドメイン

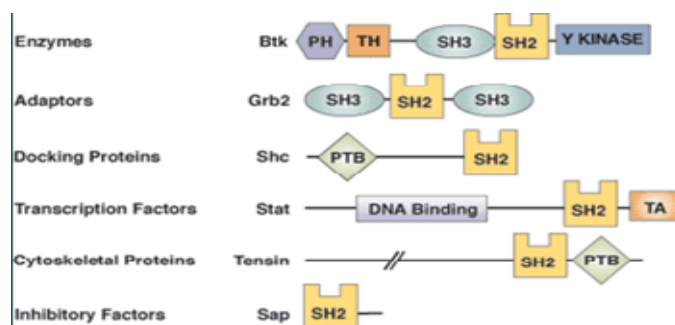
タンパク質は、主鎖の相互作用による α -ヘリックス、 β -シートの形成と側鎖間相互作用によってフォールディング folding することで全体構造が決まる。完成したタンパク質構造中にはドメイン domain を認めることができる。タンパク質でいうドメインとは、他のタンパク質内にも共通して存在する普遍的な機能/構造の単位であり、タンパク質遺伝子を構成する進化してきた単位でもある。左図では、 α -ヘリックスと反平行 antiparallel の β -シートで構成されるドメインが 2 つある(黄色と水色に着色)。それらが連結され組み合わさってタンパク質が形成されている(側鎖は描かれていない)。



現在、ドメインとして 25 アミノ酸～500 アミノ酸で構成されているものが多数確認されている。原核細胞の構成タンパク質は、2/3 が複数ドメインを持っている。大腸菌では数千種のタンパク質が約 400 個のドメインの組み合わせで出来ている。真核細胞では構成タンパク質の 3/4 が複数ドメインを備え、その大部分は 600-700 種のドメインの組み合わせである。

2. タンパク質ドメインの例

ドメインは、多くはアルファベット大文字で表示する。多くのタンパク質は、コードする遺伝子の重複や



組み換えで進化してきたと考えることができたため、異なるタンパク質が同一のドメインを持ち、他のドメインと組み合わせによって固有の構造機能を発揮している。左図は様々なタンパク質のドメイン構成を図示したものである。

Btk(Bruton's tyrosine kinase)は他のタン

パク質のチロシンをリン酸化する酵素で、免疫の B 細胞 (抗体を分泌する細胞の前駆細胞) の活性化に関係する。Grb2 は MAPK/ERK 経路という細胞表面で受け取られる細胞増殖信号を核に伝えるタンパク質間相互作用などに関係する数多くのタンパク質と結合し、Shc はリン酸化チロシンを持つ多様なタンパク質を集める作用がある。Stat (Signal Transducer and Activator of Transcription) は、細胞の増殖、生存、分化に関係する。Tensin は細胞膜にあり、インテグリンという接着分子によって細胞が細胞外基質に結合し組織を形作る状態を感知する。Sap はアミロイドというタンパク質が臓器の細胞に沈着する病的な状態を感知する。これらのドメインは、構造形成だけでなく

固有の機能 (特定のアミノ酸配列に結合する **and/or** 特定の反応を触媒する) を複数発揮する¹。例えば **Btk** はリン酸化チロシンやプロリンリッチドメイン、あるいはホスホイノシチドに結合し、他のタンパク質のチロシン(Y)をリン酸化すると推定できる。

3. ドメインの階層性

複数のドメインは、その特徴の類似性によって、

- ・ファミリー **Family** ドメインの高次構造、機能、配列上の特徴から進化的起源が同じと推定できる。

- ・スーパーファミリー **Superfamily** ドメインの高次構造、機能の特徴はよく似ている。しかし、配列上の類似性は低く進化的起源を確定できない。

にしばしば分けられる。

例えば、右図はセリンプロテアーゼファミリー (活性中心にセリンをそなえよく似た仕組みでペプチド結合を加水分解し切断する。よく似た物質で阻害される)。 α -ヘリックスが非常によく似た配置をとり、 β -構造も組み合わせ等が異なるが、よく似た空間に配置されている。これらは配列もよく似ていて、進化上の起源が同じである。こ一方、右下図においても着色した β -構造に高い類似性がある。プロテアーゼ活性を認めることも共通している、これらのタンパク質はファミリーに属しているとみなすこともできる。ところが、その由来は脊椎動物、ウイルスあるいは植物起源であり、配列の類似性も低い。このため、ファミリーであることは、明確でなく、スーパーファミリーとして分類されている。

また、ドメインの構造特徴を

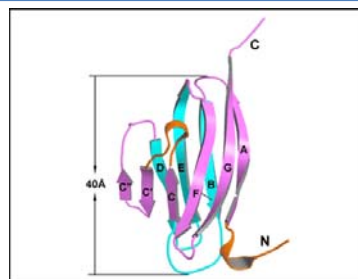
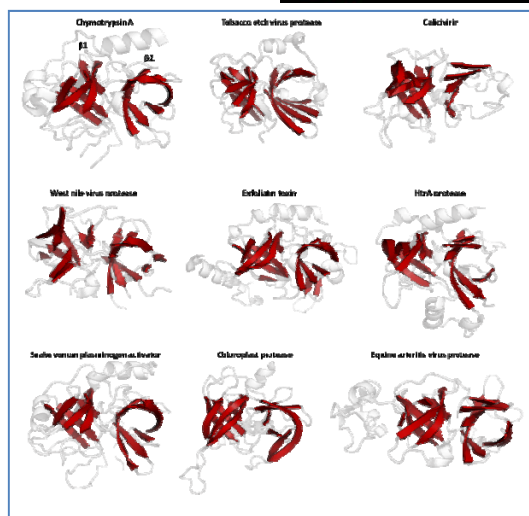
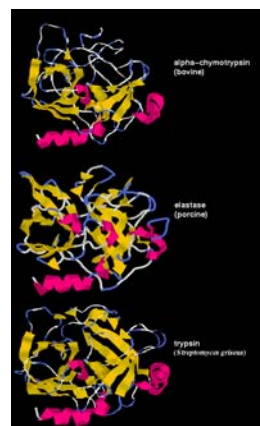
- ・フォールド **Fold** タンパク質構造/機能の主要部分を構成する構造に認められるトポロジーの共通性。

- ・クラス **Class** フォールドの二次構造とその組み合わせによる分類

で表わすことが多い。これらの用語は以下のように使われる。

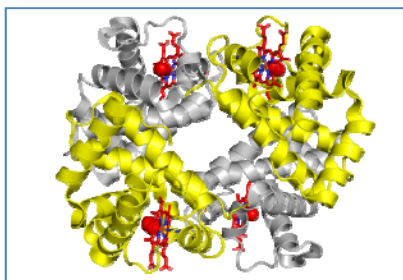
右図は抗体イムノグロブリン G (IgG) の V_H 鎖のドメイン構造 (イムノグロブリン様ドメイン) の模式図である。この構造では、対を作る 2 つの β -構造のフォールドが特徴的である。そこで「この β -構造のフォールドは、抗原結合部位を構成して、。」といった言い方をする。

クラスはこのフォールドの類型的分類とみなせ、特徴がかなりはっきりしているものが多い。以下に分類される。

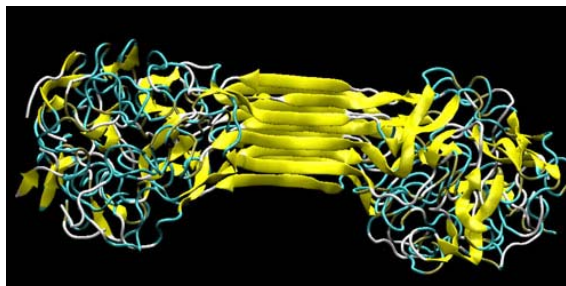


¹ PH; 酸性のリン脂質、特にホスホイノシチドリン酸に結合する。TH; Btk モチーフ+プロリンリッチドメイン。SH3; プロリンリッチドメインに結合。SH2; リン酸化チロシンに結合(Src に存在)。Y KINASE; チロシンをリン酸化する。PTB; リン酸化チロシンに結合。TA; tail-anchored。

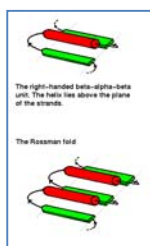
- α -ヘリカル 二次構造がほぼ α -ヘリックスだけで出来ている。ヘモグロビン、ミオグロビン など
- β -シート 二次構造がほぼ β -シートだけで出来ている。コラーゲン、クモの糸
- $\alpha+\beta$ α -ヘリックスと β -シートがドメイン中に離れて位置している。
- α/β ヘリックスとシートが β - α - β の順で配置している。例多数(下図左)
- α/β -linear β - α - β の β -シートがタンパク質中央部分で直線的に配置している。例多数
- α/β -barrel β - α - β の β -シートが筒状に配置している。例多数
- 二次構造なし



↑ α -ヘリカル ヘモグロビン

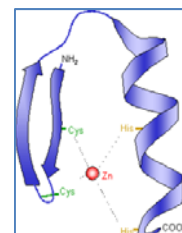


↑ β -シート クモの糸タンパク質



左図左は、 γ -グルタミルリン酸デヒドロゲナーゼの構造で、3つの α/β (クラス)を備えた類似性のある2つのアルコールデヒドロゲナーゼドメインから構成され、上のコアは5本の平行 β ストランドで出来ている。

個々のドメインの平均サイズ 100 アミノ酸(aa)で 90%が 200 以下である。

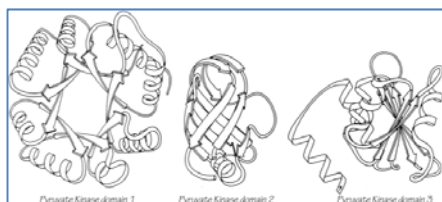


40aa 以下のものは金属イオンをキレートしたり S-S 結合をもつ。右図はその一例で、転写因子 zinc finger である。また、300aa 以上のものは疎水性コアを 2 個以上持つ。

4. ドメイン構成の特徴と形成の背景

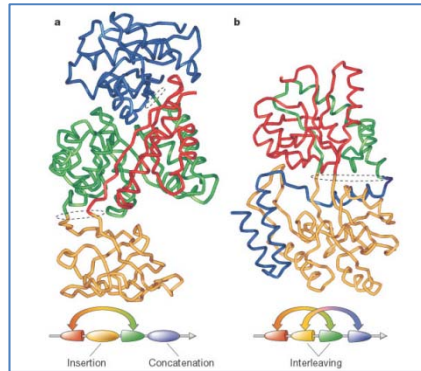
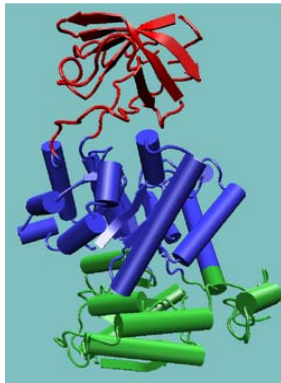
個々のドメインは疎水性のコア^{*}を備えそれがループによって連結されている。この形成には、疎水性アミノ酸側鎖の会合とともに水素結合(α -ヘリックス、 β -シート主鎖)によるペプチド結合の極性の打消しも大きな役割を果たしている。このような特徴からペプチド鎖形成時にドメインが自発的に作られ、タンパク質の内部構造となると考えられる。ただし、ドメイン形成にともなって疎水性相互作用が強まる(タン

パク質フォールディングの駆動力となっている)反面、無秩序に凝集するきらいがある。細胞内では、特定の順序でフォールディングを進行させるタンパク質、シャペロン chaperon が制御する(後述)。



進化上、新規ドメインは新しく作られるのではなく、既存の配列から、コードする遺伝子の組み換えが原因となって得られる。左図では 3 種のピルビン酸キナーゼにおいて、同じ $\alpha+\beta$ の組み合わせから異なった構造が作られている。

5. 多重ドメインタンパク質の構成

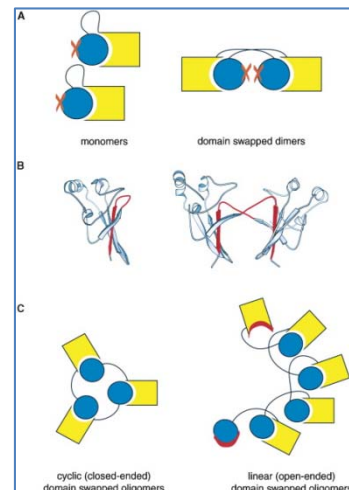
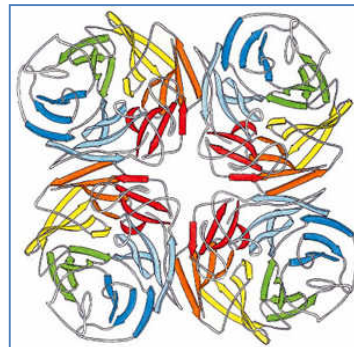


既述の通り、多重ドメインタンパク質は非常に広範に存在する。同じドメインを持つタンパク質はよく似ているのが普通であるが、全体構造がかなり違った印象を与えるものもある。例えばピルビン酸キナーゼサブユニット(図左)には4つのドメイン構成が見られる(図右 a)。そ

れは大腸菌マルトデキストリン結合タンパク質でも同じであるが。タンパク質構造全体は、大いに異なる(図右 b)。これは、4種のモチーフが、異なった順序でならび相互作用するためである。これは、ドメイン同士の結合(組み換え)と挿入の結果で形成された。

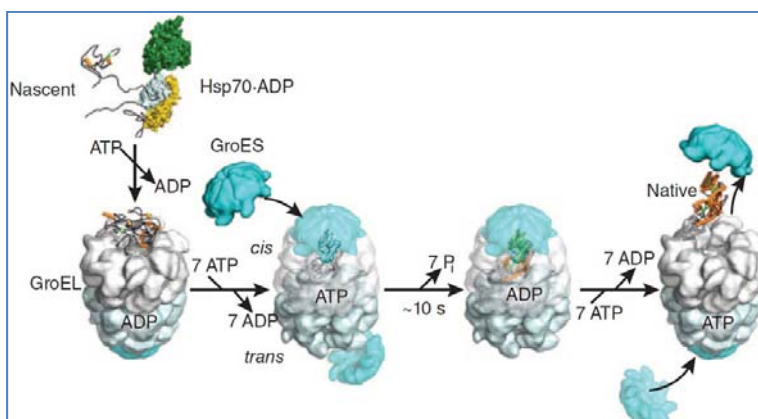
7. ドメインスワッピングとオリゴマーの形成

ドメインは、オリゴマー形成にも大きな意義を持つ。特に、お互いに結合しあうドメイン A と B を持ったタンパク質(例えば右図 A 左で緑青のマルを A、黄色を B とする)が、A+A と B+B のように分かれてタンパク質 P_A と Q_B となれば、この2つのタンパク質はオリゴマーを形成することができる(右図 A 右)。さらにその3量体や4量体もできる(右図右 C)。インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼでは、2つのドメイン(オレンジに着色したβ-ターンのと水色に着色したもの)の結合で4量体が作られている(右図左 膜に対し上から見たもの)。



8. タンパク質フォールディングとドメイン

ドメインはタンパク質が構造を形成する過程ですでに形成されている。タンパク質のフォールディングは、ドメイン形成に並行して進むと考えることができる。ドメインは疎水的な性質なものが多く、そのままと無秩序に凝集してしまうくらいがある。細胞の中でのフォールディングは、シャペロン **chaperon** という構

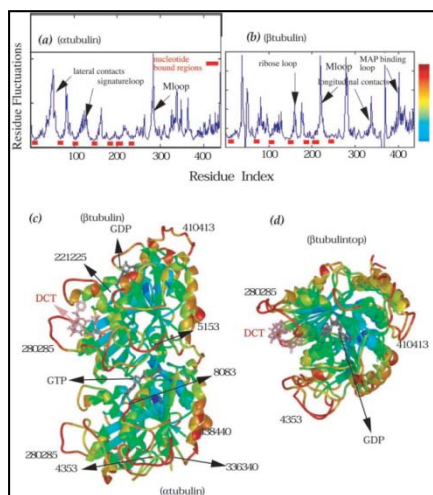


造形成途中のポリペプチドに結合する一連のタンパク質によってこのような望ましくない変化を避けつつフォールディングが進む。その一例として、HSP-70 と GroEL が関係する仕組みがある(下図 Nature Medicine 17, 1206-

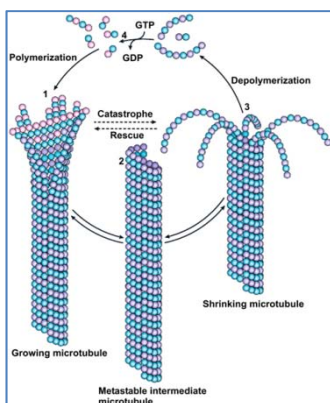
1210)。形成途中のタンパク質はHsp70 (heat shock protein 70) にフォールディングが中断され、次いでGroEL、GroESの作用(ATPを消費する)によって構造が形成されたのち遊離される。シャペロンはこれらに限らず様々なものが知られている。

9. ドメインとタンパク質構造のゆらぎ

タンパク質の構造状態は1つにとどまることはなく、自発的にあるいは他の構造体との結合によって、変化する。一般に、タンパク質全体構造において構造安定領域とゆらぎ領域が分かれて局在している。



左図は、微小管を形成するタンパク質チューブリンの構造モデルとそのゆらぎのシミュレーションである(Biophys. J. 83,



663-680)。チューブリンは α 、 β のサブユニットの二量体が筒状に集まったものである(図右)。この2つはよく似た構造をしていてゆらぎの頻度(青→茶色の順に上昇(b)の右側参照)も似たような偏りがある。一般に明瞭なドメイン構造が認められる内部のゆらぎが低く、外側のループとダイマーの接触がおこる α -ヘリックスの位置がよくゆらいでいる。内部ではGTP→GDPの加水分解と着脱がおこる中心部のゆらぎが比較的大さい。この例を含め一般に、

・ タンパク質には構造が変わらない部分と激しくゆらぐ部分とがある。

・ ゆらぎには相関のないものと相関性の高いもの(ある部分のゆらぎが他の部分に影響を与える)とがある。

・ 相関性の高いゆらぎの一例として、 α -ヘリックスのゆらぎがある。ヘリックス構成アミノ酸間の位置関係のゆらぎは少ないが、連結するセグメントのゆらぎでヘリックス全体が位置を変える。

・ タンパク質が他のタンパク質やリガンドと相互作用する部分は構造全体の一部で、他の部分では反発することが多い。このため無秩序な凝集はおこりにくい。

・ 個々のタンパク質は、単独のときと集合体の中とで、固有の構造揺らぎを起こす。

といった特徴がある。

タンパク質は、このゆらぎがもとになって

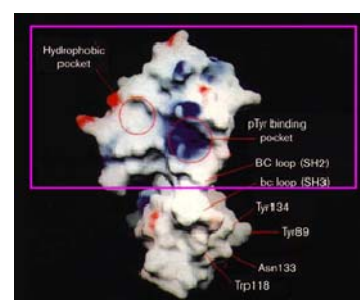
・ 他の分子の結合に続き、多くが可逆的な構造変化を起こす。

・ 局所の構造が、他のタンパク質や低分子の結合によって可変的に制御されていることが少なくない(アロステリック効果)。

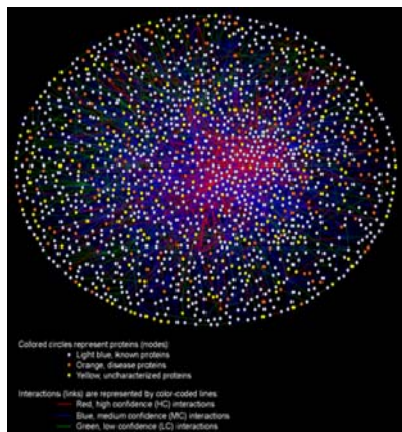
といった動的構造/機能変化の特性をそなえるのである。

10. タンパク質間相互作用

多くの水溶性タンパク質は表面が固有のパターンで荷電し特定の相手(ホスト host)と相互作用する。SH2ドメイン(Src homology 2 domain、左図)はお



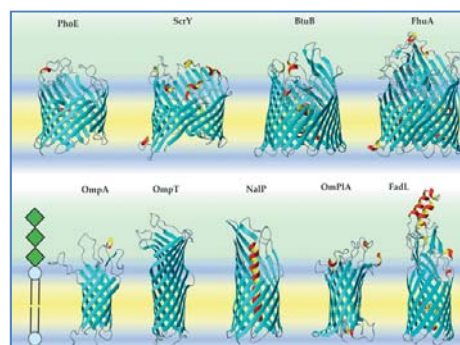
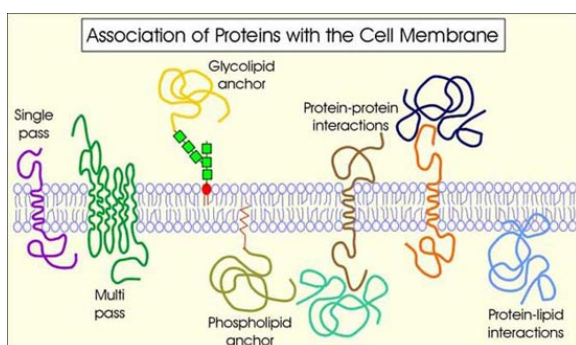
よそ 100 アミノ酸残基からなるタンパク質ドメインである²。このドメインは、リン酸化チロシン(図左中のオレンジに着色したもの)に結合する。図はタンパク質 **Abl SH2**ドメイン(上の赤枠内)と **SH3**ドメイン(プロリンに富む構造に結合する)(下)を備えた制御領域の表面の電荷分布である。赤が負に、青が正に荷電している。中央にリン酸化チロシン(負に荷電)が収まる正に荷電したポケットが認められる(Namら、Structure 4:1105)。



細胞におけるタンパク質はこのような仕組みで特定の相手のみと相互作用し、無秩序な凝集をしない。Stelzl は 25×10^6 種のヒトのタンパク質ペア間相互作用を検索し、1,705 のタンパク質間に 3,186 の相互作用を見出している(左図 Cell. 122:957-968)。点一つ一つがタンパク質をさし、線が相互作用。赤、青、緑の順に強さの弱くなっていく相互作用が見つかる。

11. 膜タンパク質

細胞では例外なく、 α -ヘリックスあるいは β -バレル構造を持ったタンパク質のみが膜を貫通している。

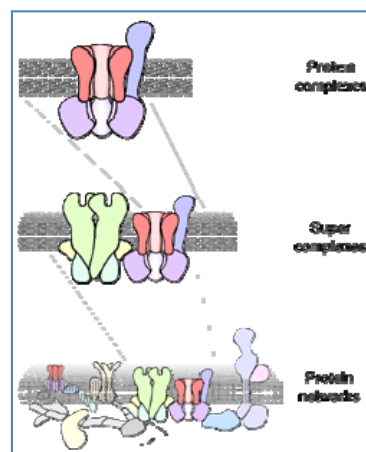


ポリペプチド鎖の N 端は細胞質側にあることも外側に

あることもある。 α -ヘリックスを備えたものは、1 回のみ貫通するものも複数回貫通するものもある。いずれの場合も、膜の脂質に接する α -ヘリックスは疎水性のアミノ酸をそなえている。 β -バレル構造はバクテリア、ミトコンドリア、クロロプラストの外膜にあり、内部が親水性、脂質接触部が疎水性の筒状である。

12. 膜タンパク質はほとんどが複合体で存在し機能する

膜タンパク質は、膜貫通部の疎水性の相互作用と、水相(特に細胞質)に露出している部分の相互作用によって複合体を作る。これは、たくさんのタンパク質が集まって作られるものが少なくない(右図上、Freiburg 大学、Fakler 教授ホームページより)。さらには、複数の複合体が集まった super complex ともいえるものがしばしば作られる。これがさらに



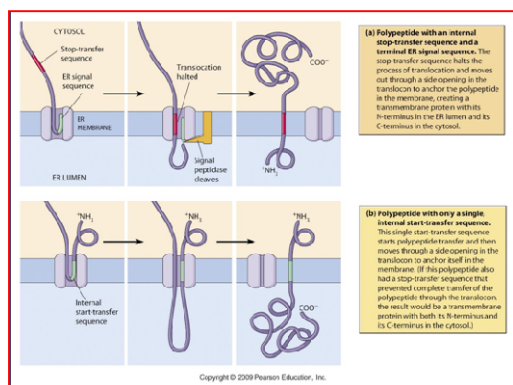
² がん遺伝子由来のタンパク質 **Src** と **Fps** の共通配列として発見された

別の **super complex** と相互作用しネットワークが作られることもまれではない。

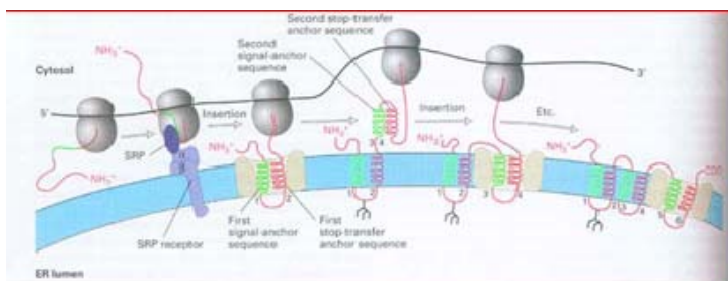
酵母においていくつかの界面活性剤を用い複合体を単離解析し、**1590** のタンパク質を調べ **1726** 通りの相互作用を認めた。そのうち、**501** 種のタンパク質複合体が特定の膜にあることを見出している (Nature 489:585)。

12. α -ヘリックスをもつ膜タンパク質の構造形成

α -ヘリックスをもつ膜貫通タンパク質はシグナル配列をそなえ、翻訳とともに膜内の環境(チャネル)に運ばれ構造が形成される。仕組みはそのタンパク質のトポロジーによって異なるが α -ヘリックスは自発的に



できる。左図は **N** 末端の方向性が異なる場合の形成過程。いずれもペプチド鎖を通過させるチャネルタンパク質が膜にあらかじめ存在する必要がある。

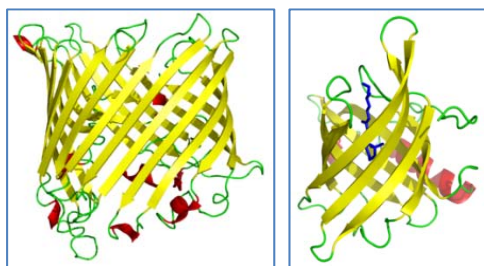


複数回貫通の場合はこの仕組みが回数分働

く。1 個のタンパク質の構造形成はのように単純化されることがあるが、実際は多数のタンパク質が一つの膜で作られる。膜タンパク質の構造形成においても、シャペロンが関与する。特に水相に露出するセグメントの形成には、タンパク質間の非構造形成的な凝集を防ぎ構造を完成するために欠かせない存在であるという見解が有力である。

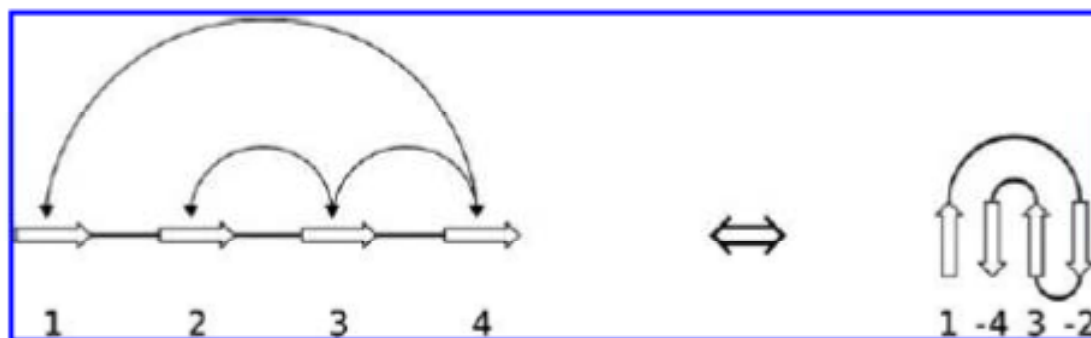
13. β -バレル構造を持つタンパク質の構造形成

β -バレル構造を持つ膜タンパク質は、内部に親水性の側鎖、輪郭の膜貫通部は疎水性の側鎖が突き



出た構造をとる。水溶性の(分泌性)ものもあり、これは内部が疎水性、外部が親水性という逆の特徴をとる。

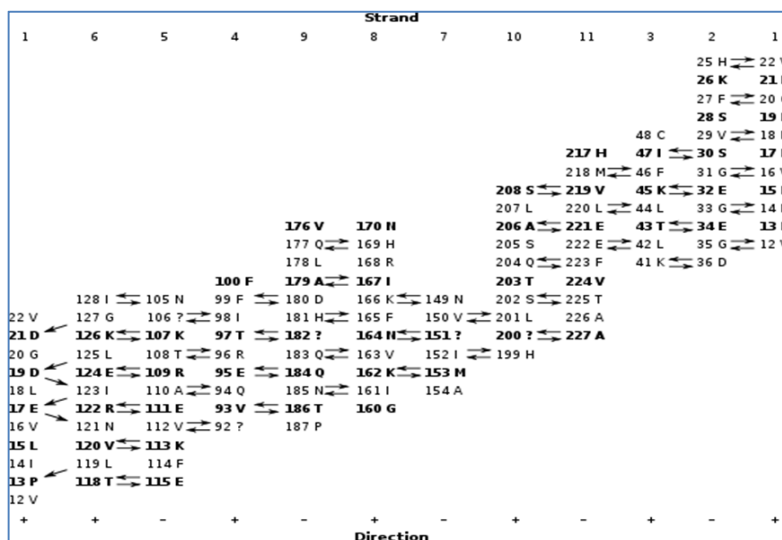
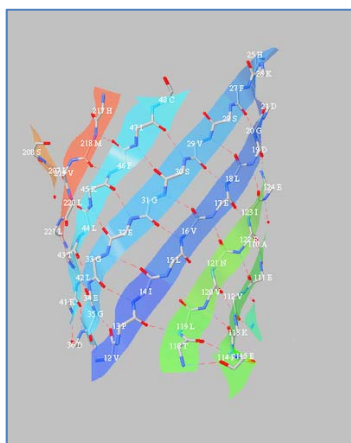
β -構造の形成過程は直列に並ぶストランドを組み合わせる配列の問題(上図)が存在する。 β -バレル構造は、全部が翻訳されない限り完成しない。個々のストランドは **N** 末端から番号付けされ、**1** を基準に反平行のものにはマ



イナスの符号をつける(上図)。立体構造形成の筋道は、以下のことが認知されている。

- β -バレル構造の形成は **folding** のプログラムが大きな問題。
- それでも、**refolding** はシャペロンなしに *in vitro* で一部再現できる。
- シャペロンが使われることから、各ステップはエネルギー最小の条件で安定化して終わるのではなく次の変化が円滑に早く進むようにプログラムされている可能性が高い。
- 一度作られた水素結合のペアが途中で崩れることで後のステップが進む可能性高い。

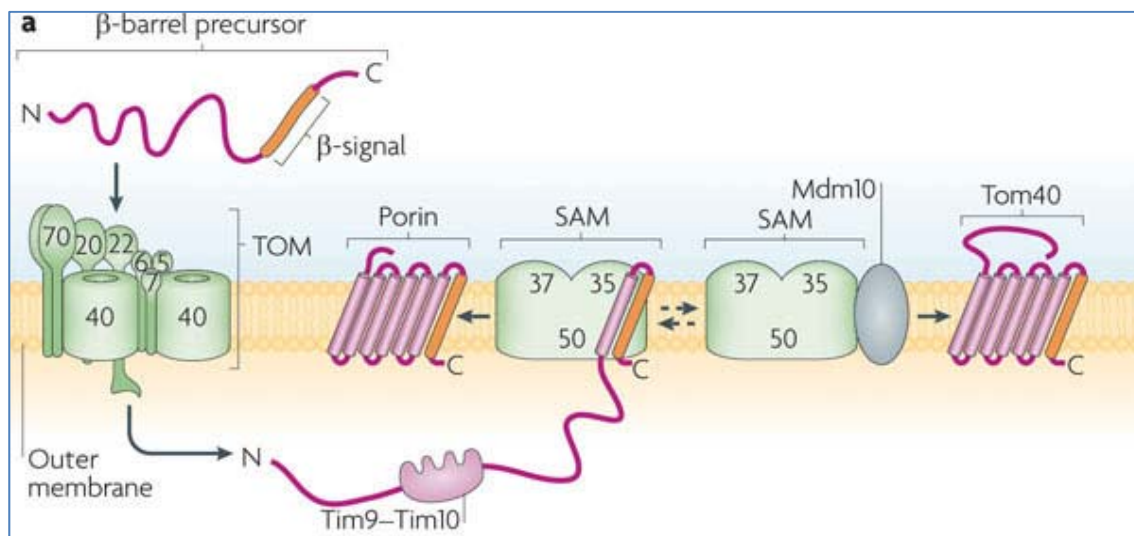
β -バレル構造を持つためにはタンパク質における水素結合に周期性がなければならない(下図)。

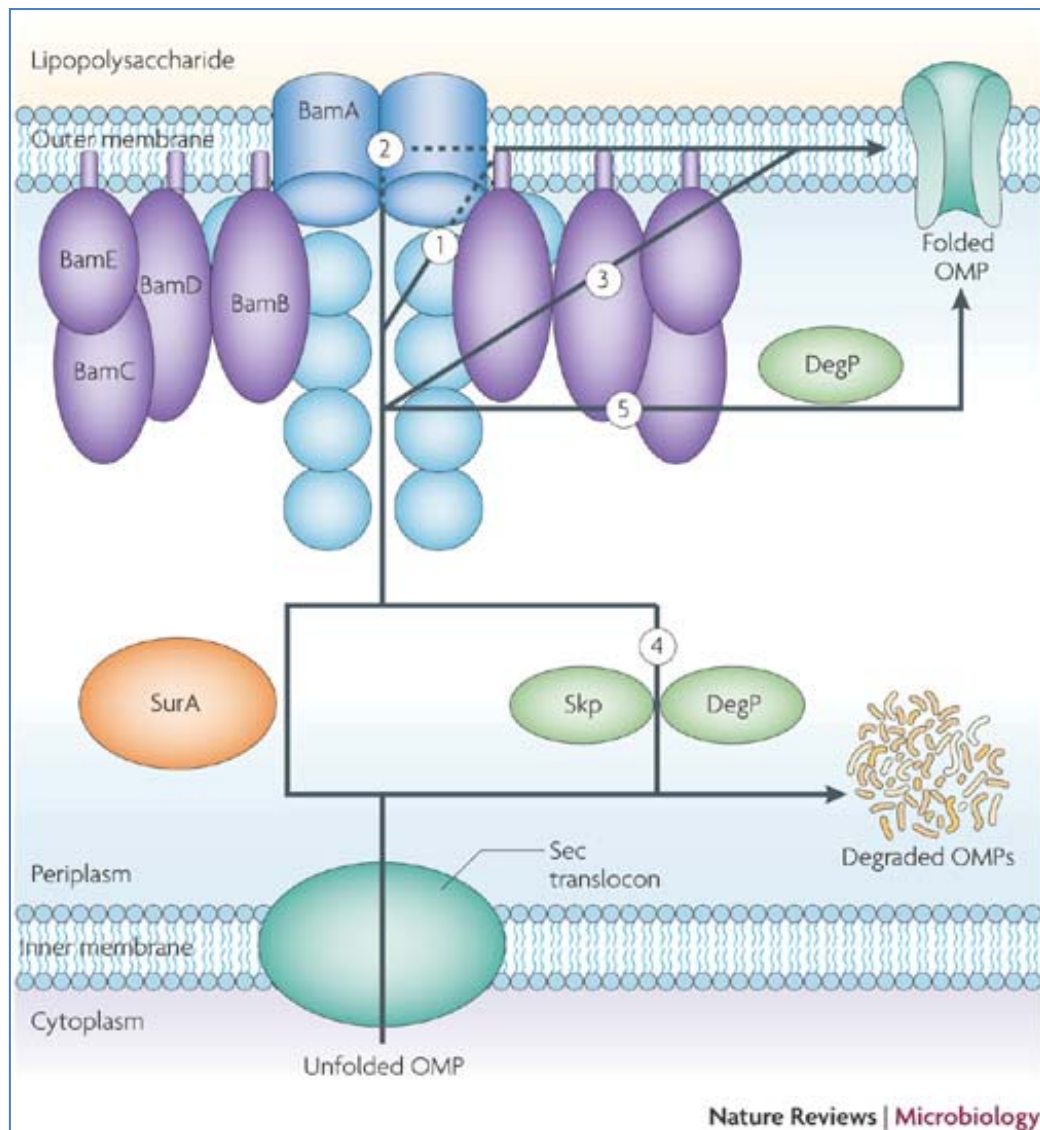


そこで、フォールディングが起こる前にまず引き金

になる構造がシグナルとなってシャペロンを用いるようにして作られると考えられている。

下図はミトコンドリア外膜に存在する β -バレルタンパク質が形成される過程のモデルである(Nature Reviews Molecular Cell Biology 11, 655-667)。まず β -シグナルを持つポリペプチド全体が TOM (translocase of the outer membrane) 複合体を通して内膜-外膜間隙に運ばれる。そこで Tim9-Tim10 (translocase of the inner membrane) シャペロンと結合する。このあと β -シグナルを含む部分が SAM (sorting and assembly machinery) に認識され、順次バレル構造が形成される。





バクテリアの外膜タンパク質にも β -バレルタンパク質が多い。これらも β -バレル前駆体へのシャペロンの結合→外膜に存在する構造体によるフォールディングというシナリオで作られる。このタンパク質は、翻訳後内膜にある SecYEG トランスロコンを通過すると、シャペロンに結合する(図下&中段)。シャペロンは SurA と Skp-DegP の 2 種類がある。SurA のノックアウトで発現量が下がるタンパク質は 8 種類ほどあるが、他は影響を受けない。したがって、2 つのシャペロンは分担してフォールディングを制御しているようだ。細胞がストレスを受けその応答に過剰の OMP を産生することがあるが、その場合は Skp-DegP が分解をになう(図中段右)。 β -バレルタンパク質は β -barrel assembly machinery (BAM) 複合体(BamA - BamE で形成される)によって構造が完成する。未完成のタンパク質-SurA 複合体は、BamA の β -バレルが形成したポア(pore)に PORTA(polypeptide transport-associated)ドメインによって導入されるか(pore-folding model □)、あるいは BAM 複合体が形成するポアに運ばれる(complex pore-folding model □)。このあと、BamA の β -バレルが鋳型になって OMP の β -バレルが作られる(barrel-folding model □)か、シャペロン(DegP など)がフォールディングを助け分解を防ぐ(chaperon-folding model □)。このように内膜、ペリプラズム(periplasm 内膜-外膜の間隙)、外膜のタンパク質すべてが関係する(上図 Nature Reviews Microbiology 7, 206-214)。