

- 12) Sato, Y., Yoshikawa, A., Mimura, H., Yamashita, M., Yamagata, A., & Fukai, S. (2009) *EMBO J.*, **28**, 2461–2468.
- 13) Kanayama, A., Seth, R.B., Sun, L., Ea, C.K., Hong, M., Shaito, A., Chiu, Y.H., Deng, L., & Chen, Z.J. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 535–548.
- 14) Alam, S.L., Sun, J., Payne, M., Welch, B.D., Blake, B.K., Davis, D.R., Meyer, H.H., Emr, S.D., & Sundquist, W.I. (2004) *EMBO J.*, **23**, 1411–1421.
- 15) Sato, Y., Yoshikawa, A., Yamashita, M., Yamagata, A., & Fukai, S. (2009) *EMBO J.*, **28**, 3903–3909.
- 16) Rahighi, S., Ikeda, F., Kawasaki, M., Akutsu, M., Suzuki, N., Kato, R., Kensche, T., Uejima, T., Bloor, S., Komander, D., Randow, F., Wakatsuki, S., & Dikic, I. (2009) *Cell*, **136**, 1098–1109.
- 17) Sato, Y., Fujita, H., Yoshikawa, A., Yamashita, M., Yamagata, A., Kaiser, S.E., Iwai, K., & Fukai, S. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20520–20525.
- 18) Sato, Y., Yoshikawa, A., Yamagata, A., Mimura, H., Yamashita, M., Ookata, K., Nureki, O., Iwai, K., Komada, M., & Fukai, S. (2008) *Nature*, **455**, 358–362.
- 19) Cooper, E.M., Cutcliffe, C., Kristiansen, T.Z., Pandey, A., Pickart, C.M., & Cohen, R.E. (2009) *EMBO J.*, **28**, 621–631.
- 20) Wang, T., Yin, L., Cooper, E.M., Lai, M.Y., Dickey, S., Pickart, C.M., Fushman, D., Wilkinson, K.D., Cohen, R.E., & Wolberger, C. (2009) *J. Mol. Biol.*, **386**, 1011–1023.
- 21) Komander, D., Reyes-Turcu, F., Licchesi, J.D., Odenwaelde, P., Wilkinson, K.D., & Barford, D. (2009) *EMBO Rep.*, **10**, 466–473.
- 22) Bremm, A., Freund, S.M., & Komander, D. (2010) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **17**, 939–947.

佐藤 裕介, 深井 周也
(東京大学放射光連携研究機構生命科学部門/
分子細胞生物学研究所)

The regulation of cell function by linkage-specific polyubiquitin binding

Yusuke Sato and Shuya Fukai (Life Science Division, Synchrotron Radiation Research Organization and Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, General Research Bldg 211, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan)

インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼのドメインの立体構造

1. はじめに

2009年にH1N1型のブタ由来新型インフルエンザがパンデミックを引き起こしたことは記憶に新しい。またH5N1型の高病原性トリインフルエンザのヒトへの感染が

懸念されるなど、インフルエンザは人類にとって現代でも重大な問題である。インフルエンザはインフルエンザウイルスが引き起こす病気で、このウイルスは8本のゲノムRNAを有する。ゲノムRNAのプロモーター領域の立体構造はNMRにより解明されている(図1A)。現在、抗ウイルス薬として、ウイルス粒子表面上に存在するノイラミニダーゼやM2タンパク質を標的とするタミフルやリレンザ、およびシンメトレルなどが広く用いられている。しかし、ノイラミニダーゼやM2タンパク質は変異が起きやすく、インフルエンザウイルスの中に既にタミフル耐性ウイルスが出現したことが報告されている。そのため、作用標的の異なる新しい抗インフルエンザ薬の発見・開発が望まれている。インフルエンザウイルスが有するRNA依存RNAポリメラーゼは、ウイルスのゲノムRNAの転写と複製の両方を行う。このRNAポリメラーゼはウイルス増殖の核となるタンパク質であるため、変異しづらい。そこで私達は、新しい標的分子として、インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼに着目した。このRNAポリメラーゼは3種類のサブユニットタンパク質(PA, PB1, PB2)から構成される。さらにNP(nucleoprotein)タンパク質がウイルスのゲノムRNAに結合している。このRNAポリメラーゼやNPの立体構造を知ることは、インフルエンザウイルスの転写や複製のメカニズムを理解し、これらのタンパク質を標的とした抗インフルエンザ薬を探索するのに有用であると考えられる。私達は病原性の強さと種間の伝播に関与するPB2サブユニットのC末端側の領域の立体構造を解明し、新規モチーフを有していることを見いだした(図2E)。本稿では、それ以外の領域の解明された立体構造も併せて紹介する。

2. インフルエンザのゲノムRNAに結合するNPの立体構造の解析

インフルエンザRNAポリメラーゼと核タンパク質であるNPは、ウイルスのゲノムRNAに結合し、互に関連している。私達は、インフルエンザRNAポリメラーゼと同時進行でNPのタンパク質の発現を進めることにした。まず、理化学研究所の遺伝子バンクからインフルエンザRNAポリメラーゼPA, PB1, PB2とNPの四つの遺伝子を入手した。それぞれのタンパク質をコードする領域をPCRで作製し、大腸菌発現用のpETベクターに組み込み、BL21大腸菌にて組み換えタンパク質を発現させた。その頃、電子顕微鏡を用いてインフルエンザRNAポリメラーゼとNPの複合体の大まかな表面構造が報告された。私達

は NP タンパク質の大腸菌発現に取り組んでいたが、十分に精製できるようになる前に、Tao らのグループにより NP タンパク質の立体構造が解明された¹⁾。NP は多量体を形成し、リング状の立体構造であると報告された²⁾(図 1B)。このようなリング状の構造をしているタンパク質として、DNA ヘリカーゼや DNA 複製時のライセンシング因子などが知られている。NP はインフルエンザのゲノム RNA に結合しているヒストン様のタンパク質だと考えられているが、ゲノム RNA の保護だけでなく、リング状の特徴的な立体構造を通して、インフルエンザのゲノム RNA 複製時にヘリカーゼ様もしくはライセンシング因子様の機能を発揮しているのかもしれない。

3. インフルエンザ RNA ポリメラーゼ PB2 サブユニットの立体構造の解析

インフルエンザ RNA ポリメラーゼのいくつかのアミノ酸の変異は、インフルエンザの病原性の強さや種間の伝播と関係していることがわかっている。その原因を解明することは、インフルエンザの病原性の強弱や複製・転写メカニズムの理解に重要であると考えられる。インフルエンザ RNA ポリメラーゼの全長タンパク質は、大腸菌では発現・精製が難しく、このため 3 分割した領域タンパク質を発現させた。それぞれ PA-1/3, PA-2/3, PA-3/3, PB1-1/3, PB1-2/3, PB1-3/3, PB2-1/3, PB2-2/3, PB2-3/3 とした。その頃に、EMBL の Cusack らの研究グループが、PB2 サブユニットの核移行シグナルを含む短い領域ペプチドと細胞側の輸送タンパク質であるインポーチンとの複合体の立体構造を発表した³⁾(図 3A)。大腸菌で発現させた 9 種のタンパク質の可溶性について調べたところ、PA-1/3 と PB2-3/3 (535-759 残基) 領域のみが可溶性画分に回収された。そこで、この二つの領域に関して、生化学的活性の検討と立体構造の解析を行うことにした。特に PB2-3/3 の領域は病原性の強さと種間の伝播に関与するアミノ酸である 627 番目のリシンを含んでいる。そこでこの領域の立体構造と生化学的解析を行えば、インフルエンザの病原性の強さと種間の伝播に関するメカニズムが解明できると考え、X 線結晶構造解析に着手した。発現したタンパク質をニッケルアガロースにより精製後、ヒスチジン・タグをトロンピンによる消化により除去、透析により脱塩し、Akta システムと CM レジンをういた陽イオン交換クロマトグラフィーにより精製した。緩衝液を交換後、タンパク質を濃縮してハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化の条件を探した。最終的には 0.1 M カコジル酸ナトリウム、pH

6.2, 2.2 M ギ酸ナトリウムで結晶化した。また結晶構造因子の位相を決定するためにセレノメチオンを取り込ませた PB2-3/3 タンパク質を作製し、0.1 M カコジル酸ナトリウム、pH 6.0, 3 M ギ酸ナトリウムの条件により結晶化した。MAD 法により高エネルギー研究所の KEK NW12 ビームラインを利用して位相を決定し、2.70 Å の解像度で PB2-3/3 タンパク質の立体構造を解明した⁴⁾(図 2E)。ネイティブタンパク質の空間グループは $P3_221$ ($a=b=52.5$ Å, $c=156.3$ Å)。VM 値は 2.7 であった。セレノメチオンを取り込ませた PB2-3/3 タンパク質の結晶の空間グループも同様であった ($a=b=52.6$ Å, $c=156.4$ Å)。解明された立体構造を見てみると面白い特徴的な構造がわかった⁴⁾(図 2E)。ギリシャ文字の ϕ の形に似ていることから、これを ϕ 構造と名付けた。驚いたことに、病原性の強さと種間の伝播を決めるアミノ酸である 627 番目のリシンがこのモチーフ上に乗っていることがわかった⁴⁾(図 2E)。立体構造・機能共に面白い特徴的なモチーフであると考えている。私達と同じ頃、EMBL の Cusack らのグループにより同じドメインの構造が解明された⁵⁾。立体構造を見てみると塩基性の窪みがあったので PB2-3/3 タンパク質の RNA 結合活性を表面プラズモン共鳴解析により検定して RNA 結合活性を示した⁴⁾。病原性に関与する 627 番目のリシンに着目し、このリシンを病原性の弱いインフルエンザで見られるグルタミン酸に置換した PB2 領域タンパク質を作製した。病原性の強いタンパク質 (627 番目のアミノ酸がリシン) では RNA に強く結合し、病原性の弱いタンパク質 (627 番目のアミノ酸がグルタミン酸) では結合が弱いことを見いだした⁴⁾。後に河岡博士の研究グループにより、高病原性 H5N1 トリインフルエンザとブタ由来の H1N1 パンデミックインフルエンザのこの領域タンパク質の立体構造が、それぞれ解明、報告されている⁶⁾(図 3B)。これらの立体構造は現在最も注目されるヒト感染性の変異を含んでおり、立体構造を明らかにすることで、変異と感染のメカニズムの説明が可能になりつつある。

インフルエンザ RNA ポリメラーゼ PB2 サブユニットについては、他にも宿主細胞の mRNA のキャップ構造に結合する中央領域のドメインの立体構造が明らかにされている⁷⁾(図 2D)。私達はこの構造にも着目した研究を始めている。

4. インフルエンザ RNA ポリメラーゼ PB1 サブユニットなどの部分ドメイン及びその複合体の立体構造の解析

複数のグループが、インフルエンザ RNA ポリメラーゼ

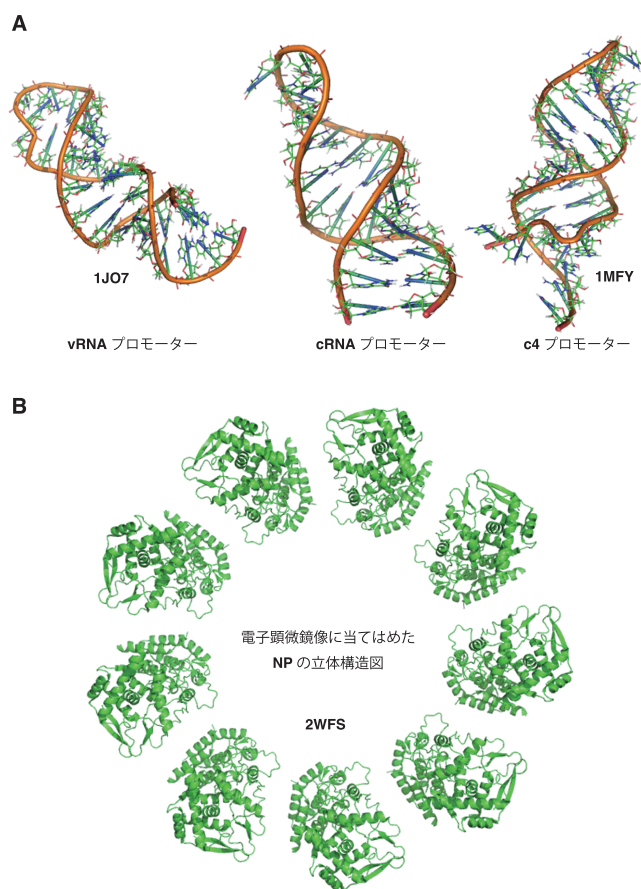


図1 インフルエンザ RNA プロモーターと NP タンパク質の立体構造

- A) インフルエンザウイルスのゲノム RNA プロモーター領域の立体構造。NMR により解明された。この領域にインフルエンザ RNA ポリメラーゼが結合すると思われる。
- B) インフルエンザ NP タンパク質の立体構造を電子顕微鏡による解析に当てはめた像。リング状という特徴的な構造を形成していることから、単なるヒストン様のタンパク質ではないと考えられる。

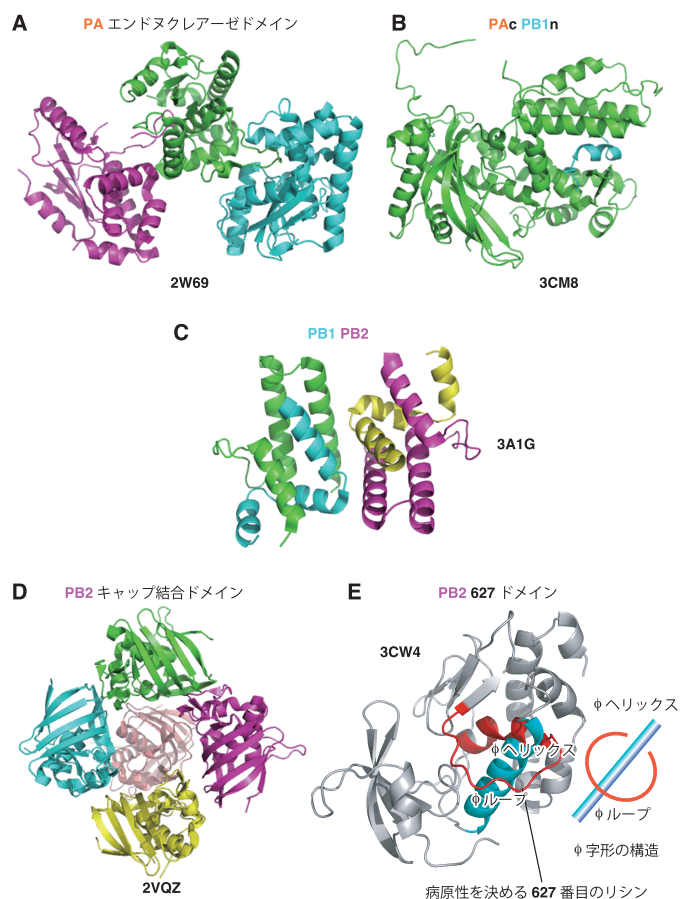


図2 インフルエンザ RNA ポリメラーゼの各サブユニットのドメインの立体構造

- A) PA のエンドヌクレアーゼ活性を有する N 末端領域 (1~209 アミノ酸) の立体構造。
- B) PA の C 末端領域 (257~716 アミノ酸) と PB1 の N 末端ペプチド (1~25 アミノ酸) の複合体の立体構造。
- C) PB1 の C 末端領域 (678~757 アミノ酸) と PB2 の N 末端ペプチド (1~37 アミノ酸) の複合体の立体構造 (結晶の中に 2 対の構造が存在する)。
- D) PB2 のキャップ結合活性のある中央領域 (318~483 アミノ酸) の立体構造。キャップとの複合体として解明された (結晶の中に 5 対の構造が存在する)。
- E) 筆者らが解明した PB2 の病原性の強さと種間の伝播に関与する領域 (535~759 アミノ酸)、627 ドメインの立体構造。主鎖毎に色を変えている (結晶構造として登録されている主鎖をそれぞれ示している。それぞれのドメインが必ずしも多量体を形成しているわけではないが、参考のために全て示した)。

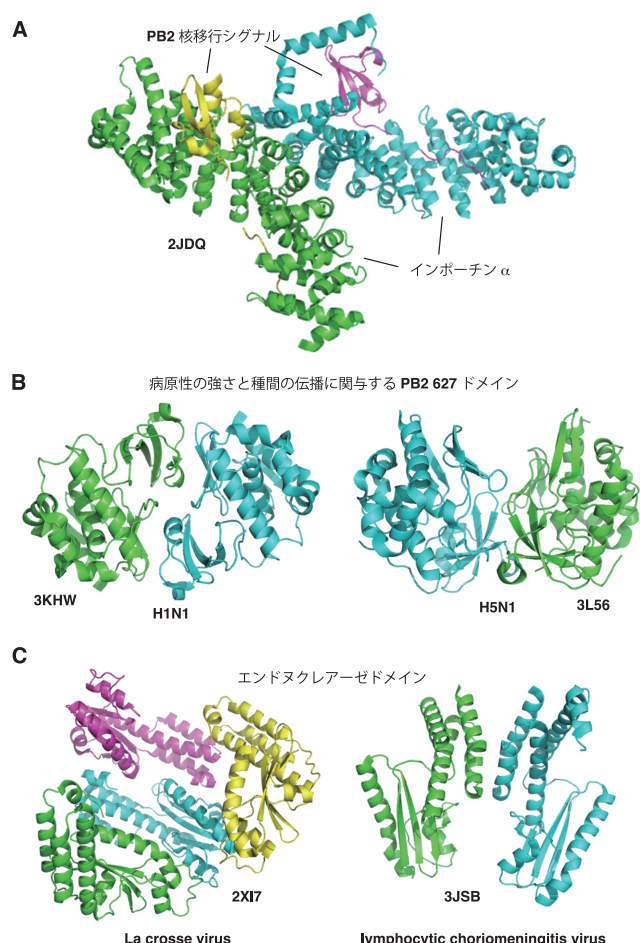


図3 インフルエンザ RNA ポリメラーゼ関連の立体構造

- A) PB2 サブユニットの核移行シグナルペプチド (687~759 アミノ酸) と宿主細胞側のインポートン (66~512 アミノ酸) の複合体の立体構造。
 B) H1N1 ブタ由来パンデミックインフルエンザと H5N1 高病原性トリインフルエンザの PB2 サブユニットの病原性に関する 627 ドメインの立体構造。
 C) リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (lymphocytic 2 choriomeningitis virus) とオルソブニヤウイルス (La crosse virus) のエンドヌクレアーゼドメインの立体構造。

の異なるサブユニットの部分タンパク質複合体の立体構造を報告している (図 2B, C)。PA サブユニットの C 末端と PB1 サブユニットの N 末端の複合体⁸⁾ (図 2B) と、PB1 サブユニットの C 末端と PB2 サブユニットの N 末端の複合体^{9,10)} (図 2C) である。これらのサブユニット間の相互作用を阻害する化合物は、インフルエンザ RNA ポリメラーゼ複合体の形成を阻害し、新しい作用標的の抗インフルエンザ薬になる可能性がある。

5. インフルエンザ RNA ポリメラーゼ PA サブユニットの立体構造とその応用

ウイルス遺伝子の転写反応は、宿主細胞 mRNA 由来のキャップ構造を含むオリゴヌクレオチドをプライマーとして開始する。このプライマーは PA サブユニットのエンドヌクレアーゼ活性によってキャップ構造の 10 数塩基下流が切断されて調製される。複数の研究グループにより、PA サブユニットの N 末端の立体構造が解明された^{11,12)}。その立体構造の比較からエンドヌクレアーゼ活性が予想され、EMBL のグループらがそれを生化学的に証明し、立体構造と共に報告した。図 2A に示すように、 α/β 加水分解フォールドを形成しており、活性部位に 2 価のマンガンイオンを有していた。エンドヌクレアーゼ活性には、このマンガンイオンが必要である。私達の研究グループも立体構造解明を目指していたが、この報告により断念し、立体構造の情報と生化学的な活性から、抗インフルエンザ薬の候補化合物を探索することにした。最初は立体構造情報を基にした *in silico* のスクリーニングで探したが、私達が行った系では良い化合物を見つけることはできなかった。そこで試験管内で PA のエンドヌクレアーゼ活性を阻害する化合物を探索することにした。PA エンドヌクレアーゼタンパク質を大腸菌にて発現、ニックルアガロースと陰イオン交換クロマトグラフィーにより精製し、このタンパク質を用いて PA エンドヌクレアーゼアッセイ系を立ち上げた。この系を用いて、エンドヌクレアーゼ活性を阻害する化合物を探索した。

まずは既に抗インフルエンザ活性が知られている緑茶カテキンについて、インフルエンザエンドヌクレアーゼ活性の阻害効果があるかどうかを検討した。緑茶カテキンとしてガロイル基を有するエピガロカテキンガラート、エピカテキンガラートと、ガロイル基の無いエピガロカテキン、エピカテキンを用いた。その結果、ガロイル基を有するエピガロカテキンガラート、エピカテキンガラートはエンドヌクレアーゼ阻害活性を有するのに対し、ガロイル基の無いエピガロカテキン、エピカテキンはエンドヌクレアーゼ阻害活性が無いもしくは弱かった。この構造活性相関が PA サブユニットのエンドヌクレアーゼドメインの立体構造から説明できるかどうかを *in silico* の結合シミュレーションを用いて調べた。その結果、ガロイル基を有するエピガロカテキンガラート、エピカテキンガラートはより隙間が少なくエンドヌクレアーゼドメインの活性部位のポケットの中に入り込むのに対して、ガロイル基の無いエピ

ガロカテキン、エピカテキンはポケットの中で大きな隙間が生じることが分かった。試験管内のエンドヌクレアーゼ阻害活性と *in silico* の計算結果が合致した。

次に有機化学合成されたサリドマイドに着目し、東京大学・橋本祐一博士より御供与されたサリドマイド誘導体について阻害活性を検討した。サリドマイドは睡眠薬として使用されていたが催奇形性の副作用のため市場から撤退し、最近ではエイズやがんなど様々な疾病に対する薬効が再評価され、我が国でも多発性骨髄腫などの薬として使われている。橋本祐一博士は各種サリドマイドの誘導体を有機化学的に合成・研究している。その中のある一群、34種類のフェネチルフェニルフタルイミド (PPT) 誘導体についてPA エンドヌクレアーゼ阻害活性を検討した。その結果、PPT-65, PPT-66, PPT-67の3種類にてPA エンドヌクレアーゼの阻害活性が見いだされた¹³⁾。共通の化学構造を検討すると、エチルカテコール基を有していることが分かった。このエチルカテコール基はなんとカテキンとも共通の構造であった。国立感染症研究所との共同研究により、これらの化合物は実際に抗インフルエンザ活性を有していることが示された¹³⁾。サリドマイド類似の化合物を抗インフルエンザ薬の候補として考えることは、新しいアイデアといえる。

次に私達は天然物由来の化合物に着目した。徳島文理大学薬学部・浅川義範博士、橋本敏弘博士から御供与頂いた10種類のマルカンチン化合物を含む33種類の天然物由来の化合物についてPA エンドヌクレアーゼ阻害活性を検討した。マルカンチンはコケ植物であるゼニゴケ *Marchantia polymorpha* に含まれ、大環状ビスベンジル構造を有しており、これまでに抗菌活性や5-リボキシゲナーゼ阻害作用などの様々な生理活性を示すことが知られている。その結果、エチルカテコール骨格を有する5種類のマルカンチン化合物のみがPA エンドヌクレアーゼ活性を阻害した¹⁴⁾。カテキン・サリドマイド類似化合物の結果と併せると、全く異なる化合物群に共通してエチルカテコール基がインフルエンザPA エンドヌクレアーゼ阻害に重要と分かった。次に、これらの化合物をインフルエンザウイルスに作用させたところ、A型インフルエンザウイルス (H1N1, H3N2) ではマルカンチンEが、B型インフルエンザウイルスではマルカンチンA, E, ペロテチンFがウイルスの増殖を抑制した¹⁴⁾。PA エンドヌクレアーゼ阻害を標的とするマルカンチン化合物は、新しい抗インフルエンザ薬のリードとして期待できる。また、エチルカテコール基を展開した新規な化合物を探索する道も切り開かれ

た。

インフルエンザPA エンドヌクレアーゼドメインに機能と立体構造の類似した、他のウイルスのエンドヌクレアーゼドメインの立体構造が二つ報告された¹⁵⁾ (図3C)。アレナウイルスのプロトタイプであるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルスの lymphocytic 2 choriomeningitis virus と、節足動物が媒介しヒトを含む哺乳類に感染するウイルスであるオルソブニヤウイルスの La crosse virus である¹⁵⁾ (図3C)。これらのウイルスもRNAをゲノムとして持ち、宿主細胞側のmRNAのキャップを奪うことにより、プライマーを作りウイルス自身の転写を行う点でインフルエンザと共通していると思われる。エンドヌクレアーゼ阻害の化合物を包括的に検索すれば、これらのウイルスに共通する抗ウイルス薬を開発することも可能であると期待する。

6. おわりに

インフルエンザのRNAポリメラーゼ全体や重要なドメインの立体構造が解明されれば、新規な抗インフルエンザ薬の創薬に弾みがつくと思われる。またウイルスの進化などの解明にも重要な示唆を与える可能性がある。

謝辞

共同研究者の東京大学・橋本祐一博士、徳島文理大学・浅川義範博士・橋本敏弘博士、国立感染症研究所・高橋仁博士や阪大微生物研究会・奥野良信博士を初めとした先生方、その他協力頂きました多くの先生方や共同研究者に感謝致します。また、ミニレビューにコメントを下さいました金沢大学・中西義信博士、岩手医科大学・中西真弓博士、横浜市立大学・朴三用博士に感謝致します。

- 1) Ye, Q., Krug, R.M., & Tao, Y.J. (2006) *Nature*, 444, 1078–1082.
- 2) Coloma, R., Valpuesta, J.M., Arranz, R., Carrascosa, J.L., Ortín, J., & Martín-Benito, J. (2009) *PLoS Pathog.*, 5, e1000491.
- 3) Tarendeau, F., Boudet, J., Guilligay, D., Mas, P.J., Bougault, C.M., Boulo, S., Baudin, F., Ruigrok, R.W., Daigle, N., Ellenberg, J., Cusack, S., Simorre, J.P., & Hart, D.J. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 14, 229–233.
- 4) Kuzuhara, T., Kise, D., Yoshida, H., Horita, T., Murazaki, Y., Nishimura, A., Echigo, N., Utsunomiya, H., & Tsuge, H. (2009) *J. Biol. Chem.*, 284, 6855–6860.
- 5) Tarendeau, F., Crepin, T., Guilligay, D., Ruigrok, R.W., Cusack, S., & Hart, D.J. (2008) *PLoS Pathog.*, 4, e1000136.
- 6) Yamada, S., Hatta, M., Staker, B.L., Watanabe, S., Imai, M., Shinya, K., Sakai-Tagawa, Y., Ito, M., Ozawa, M., Watanabe, T., Sakabe, S., Li, C., Kim, J.H., Myler, P.J., Phan, I., Ray-

- mond, A., Smith, E., Stacy, R., Nidom, C.A., Lank, S.M., Wiseman, R.W., Bimber, B.N., O'Connor, D.H., Neumann, G., Stewart, L.J., & Kawaoka, Y. (2010) *PLoS Pathog.*, 6, e1001034.
- 7) Guilligay, D., Tarendeau, F., Resa-Infante, P., Coloma, R., Crepin, T., Sehr, P., Lewis, J., Ruigrok, R.W., Ortin, J., Hart, D.J., & Cusack, S. (2008) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 15, 500–506.
- 8) Sugiyama, K., Obayashi, E., Kawaguchi, A., Suzuki, Y., Tame, J.R., Nagata, K., & Park, S.Y. (2009) *EMBO J.*, 28, 1803–1811.
- 9) Obayashi, E., Yoshida, H., Kawai, F., Shibayama, N., Kawaguchi, A., Nagata, K., Tame, J.R., & Park, S.Y. (2008) *Nature*, 454, 1127–1131.
- 10) He, X., Zhou, J., Bartlam, M., Zhang, R., Ma, J., Lou, Z., Li, X., Li, J., Joachimiak, A., Zeng, Z., Ge, R., Rao, Z., & Liu, Y. (2008) *Nature*, 454, 1123–1126.
- 11) Yuan, P., Bartlam, M., Lou, Z., Chen, S., Zhou, J., He, X., Lv, Z., Ge, R., Li, X., Deng, T., Fodor, E., Rao, Z., & Liu, Y. (2009) *Nature*, 458, 909–913.
- 12) Dias, A., Bouvier, D., Crépín, T., McCarthy, A.A., Hart, D.J., Baudin, F., Cusack, S., Ruigrok, R.W. (2009) *Nature*, 458, 914–918.
- 13) Iwai, Y., Takahashi, H., Hatakeyama, D., Motoshima, K., Ishikawa, M., Sugita, K., Hashimoto, Y., Harada, Y., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Sei, Y., Yamaguchi, K., & Kuzuhara, T. (2010) *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 5379–5390.
- 14) Iwai, Y., Murakami, K., Gomi, Y., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Okuno, Y., Ishikawa, T., Hatakeyama, D., Echigo, N., & Kuzuhara, T. (2011) *PLoS ONE*, 6, e19825.
- 15) Morin, B., Coutard, B., Lelke, M., Ferron, F., Kerber, R., Jamal, S., Frangeul, A., Baronti, C., Charrel, R., de Lamballerie, X., Vornrhein, C., Lescar, J., Bricogne, G., Gunther, S., & Canard, B. (2010) *PLoS Pathog.*, 6, e1001038.

葛原 隆¹, 津下 英明²

(¹ 徳島文理大学薬学部生化学教室,

² 京都産業大学総合生命科学部
タンパク質構造生物学研究室)

The tertiary structures of the domains of influenza RNA polymerase

Takashi Kuzuhara¹ and Hideaki Tsuge² (¹Laboratory of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Yamashiro-cho, Tokushima 770-8514, Japan; ²Faculty of Life Sciences, Kyoto Sangyo University, Kamigamo Motoyama, Kita-ku, Kyoto 603-8555, Japan)

ゴルジ体以降の小胞輸送における低分子量 GTPase と BAR ドメインタンパク質の役割

1. はじめに

ヒトのからだには約 60 兆個の細胞が存在し、多様な細胞が正しく機能することによって個体の恒常性が維持されている。細胞内には様々なオルガネラが存在し、これらのオルガネラや細胞膜は脂質二重層からなる膜で囲まれて区画化されており、固有の機能を保持している。このような固有の機能は、オルガネラ間の物質（タンパク質や脂質など）のやり取りによって維持され、細胞の恒常性維持のために不可欠である。区画化されているオルガネラの間（オルガネラと細胞膜の間も含む）のタンパク質や脂質の輸送は、主として輸送小胞を介して行われる。小胞輸送の一連の過程、すなわち輸送小胞の形成、運搬、融合は特定の分子群による調節を受けている（図 1）。

輸送小胞の形成は、供与オルガネラ膜に低分子量 GTPase の Arf が結合し、コートタンパク質やエフェクタータンパク質などが集合することによって開始する¹⁾（図 1）。Arf のエフェクタータンパク質のなかには、膜の湾曲の認識、あるいは形成の促進に関与する BAR (Bin/Amphiphysin/Rvs) ドメインを有するタンパク質の arfaptin がある^{2,3)}。

本稿では、小胞輸送における Arf ファミリー低分子量 GTPase と BAR ドメインタンパク質の構造と役割について概説し、筆者らの研究成果を中心にして、Arf-like 1 (Arl1) と arfaptin の相互作用によるゴルジ体膜からの小胞や管状 (tubule) の輸送キャリアーの形成機構について解説する。

2. Arf ファミリー低分子量 GTPase の活性化と小胞輸送における役割

Arf は、コートタンパク質のオルガネラ膜上への集合、リン脂質の代謝、アクチン細胞骨格の再構築などを調節することによって、細胞内小胞輸送、およびオルガネラの機能や構造の維持において重要な役割を果たしている。Arf ファミリーには、Arf-like protein (Arl), Arf-related protein 1 (ARFRP1) や Sar1 タンパク質も含まれる。哺乳動物には、6 種類の Arf, 20 種類の Arl, 2 種類の Sar1 タンパク質が存在する^{1,4)}。

Arf ファミリーの低分子量 GTPase は、活性な GTP 結合