

ABC 輸送体 TAP-like と TAP ファミリー

前田正知, 大橋綾子

ABC 輸送体 TAPL (TAP-like, ABCB9) は、小胞体の内腔にペプチドを輸送する TAP の構成サブユニット TAP1 と TAP2 に一次構造が似たハーフタイプの輸送体で、三者は共通の祖先遺伝子から進化したと考えられる。TAPL は細胞内でホモ二量体を形成し、また試験管内輸送系では TAP よりも長いペプチドを基質として輸送できる。TAPL は様々な臓器において発現しているが、細胞に安定発現させるとリソソームに局在するため、TAP のような MHC クラス I 分子への抗原ペプチド提示に関与するとは考えにくい。脊椎動物以外の動物から見いだされるホモログは、いずれも TAP に比べ TAPL により高い相同性を示すことから、TAPL の生理機能を解明する上で、獲得免疫系を有さない線虫などのモデル動物の利用は有効と考えられる。

1. はじめに

ABC 輸送体は、複数回膜を横切る膜貫通ドメインと細胞質に突出した ATP 結合ドメインを共通に持ち、ATP の加水分解に共役してそれぞれが特有の基質を輸送する大きな遺伝子ファミリーである。その名称は、ファミリー間で高度に保存された ATP 結合ドメイン “ATP-binding cassette” に由来する¹⁾。ABC 輸送体は、他の ATP 駆動型のポンプ ATPase のように細胞の生死に直接関わらないものの、多細胞生物が内外の環境に適応して恒常性を維持して行くのに欠かせない役割を担っている。そのため、ABC 輸送体の変調は疾患と密接に関連すると予想され、一部の ABC 輸送体の知見が蓄積するにつれてファミリーメンバー全体の遺伝子と機能を明らかにすることの重要性が認識されてきている²⁾。

筆者らはこのような背景のもと、ゲノムプロジェクトが終了する以前に、この大きなファミリーの構成メンバーを

ホモロジークローニングによって明らかにすることを計画し、その過程で抗原ペプチド輸送体 TAP (transporter associated with antigen processing) に酷似した TAP-like (TAPL) を発見した³⁾。TAPL もペプチド輸送体であることが現在明らかになっており、TAPL の生理機能を解明することは大変興味深く思われる。ここでは、TAPL の一次構造及び遺伝子構造の特徴とその生化学的な性質についてまとめた。

2. TAPL と TAP の一次構造の類似性

保存された ATP 結合ドメインの N 末端と C 末端に縮重プライマーを設定し、ラット腸管の総 RNA から RT-PCR を行ったところ、新規の cDNA 配列を得た。それから推定されるアミノ酸配列は TAP1 及び TAP2 のものと異なるが酷似していたため、全長配列を決定し TAPL (TAP-like) と命名した (図 1)³⁾。TAPL はハーフタイプの ABC 輸送体で、10 回の推定膜貫通ドメインに続き ABC ドメインを有している (図 2)。このことより、TAPL はホモ二量体もしくは他のハーフタイプの ABC 輸送体とヘテロ二量体を形成し、機能していると考えられる (後述)。

ラット TAP1 と TAP2 の配列と TAPL の配列を比較し 3 者の保存性を調べると、それぞれ 39%、41% の残基が完全に一致し (図 3)、保存的置換をした残基も含めれば約 60% の残基が相同であった。特に膜貫通ドメインにおい

大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野 (〒565-0871 吹田市山田丘 1-6)

ABC transporter TAP-like and TAP family
Masatomo Maeda and Ayako Ohashi-Kobayashi (Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamada-oka Suita City, Osaka 565-0871, Japan)

| | | | |
|----------|------|---|-----|
| r-TAPL | 1: | MRLWKAVVVTLAFVS | 15 |
| r-TAPL | 16: | M-DVGVTTAIYAFSHLDRSLLLEDIR-HF-NIFDVL-DL--WAACLYRSCLLLGATIGVAKNSALGPRRLRASWL-VITLV-CLFVGIYAMAKLLLFSEV | 107 |
| r-TAP2 | 1: | M-ALSHPRPWASLLLVDLALLGLLQSSLGTLTLLPGLPGL-W--L-EGTLRLGLWGLLKVGLL--LRLVGTFLPLCLITNPLFFSLRALVGMTSTSV | 91 |
| r-TAP1 | 1: | MAAHAWPTAALLLLLVWLLRPVLPGIFSLVPEVPLLRVWAVGLSRWAI-LGLGVRGVLGVTAGA-RGWLAALQPLVAALGLALPGLASFRLKLSAWGA | 98 |
| r-TAPL | 108: | RRPIRDPFWALFVWWTYISLAASFLWGLLATAVTRPDAEALEPGNEGFGGAPAEQASGATLQKLLSYTKPKDVAFLVAASFFLIVAALGETFLPYTGR | 207 |
| r-TAP2 | 92: | VRVASASWG-LLA-DYGAVALSLAVAVL-S-P-AGA-Q--E-K-E--PGQENNRALMIRLLRSLKPDLPFLIVAFIPLAMAVWEMFIPHYSGR | 175 |
| r-TAP1 | 99: | LR-EGDN-A-GLLHWN-SRL-DAFVL-SYVAAL-P-AAALWHKLGFWAPSGHKGAGDMLCRMLGFLDSSK-G-R-LHLVLVLLILLISCLGEMAIPIFFTGR | 187 |
| r-TAPL | 208: | AIDSIQKSMQDFTTAVVVCLLAIGSSLAAGIRGIFTLVFARLNIRLNCLFRSLVSQETSFFDENRTGDLISRLTSDITWVSDLVSNINIFLRNT | 307 |
| r-TAP2 | 176: | VIDLGGDFDPAFASAIFFMCLFVSGSSLSAGRCGSFLFAESRINLRIRQLFSSLRQDLAFQFTKTGELNSRLSSDTSLMSQWLSLNANILLRSL | 275 |
| r-TAP1 | 188: | ITDWILQDKTAPSFARNWMLCILTIASTVLEFAGDGIYNI TMGHMHSRVHGEVFRAVLHQETGFFLKNPTGSI TSRVTEDTSNVCEISDKLNLFLWYL | 287 |
| r-TAPL | 308: | VKVTGVVVFMSLSWQLSLVTFMGPFIIMMVSNYGYKYKRLSKEVQSALARASTAEETISAMKTVRSFANESEAEVFLRKLQVYKL-NRKEAAAYM | 406 |
| r-TAP2 | 276: | VKVGLYFMLQVSPRLTFLSLLDPLTIAAEKVNPRHQAVLKEIQDAVAKAGQVREAVGGLQTVRSFGAEQEFRRYKAEALERCQLWRRDLKSL | 375 |
| r-TAP1 | 288: | GRGLCLLAFMIWGSFYLTVVYLLSLPLFLPRLLGKYYQSLAVKVQESLAKTQVALEALSAMPTVRSFANESEAEQKFRQLEEMKPL-NKKEALAYV | 386 |
| r-TAPL | 407: | SYVMSSGLTLLVVQVSILYGGHLVISGMSSGNLIFAIYEFVLGDCMESVYSGLMQGVGAEEKVFEFIDRQPTWHDGRLAPDHLLEGRVDFENVT | 506 |
| r-TAP2 | 376: | -YLVIQRVWALGMQVLIINVGVOILAGEVTRGGLLSFLLYQEEVGHVQNLVYMGDMLSNVGAEEKVFSYLDLRRPNLNPPTIAPPRLRLEGRVEFDVS | 474 |
| r-TAP1 | 387: | TEVWTMSVSGMLLKVGILYLGGLVVRGAVSSGNLVSFVLYQLQFTRAVEVLLSIYPSMQKSVGASEKIFEYLDRTPCSPLSGSLAPLNMMKGLVKFQDVS | 486 |
| r-TAPL | 507: | FTYTRPHTQVLQNVSFSLSPGKVTALVGPSSGSKSCVNIENFYPLQGRVLLDGEPIGAYDHYLHRVVISLVSQEPVLFARSDITDNI SYGL-PTVPF | 605 |
| r-TAP2 | 475: | FSPRPEKPVQLGLTFTLHPGKVTALVGPNGSGKSTVAALLQNLVYQPTGGQLLDGEPLVQYDHYLHRVQVVLVQEPVLFSGVKDNIAYGL-RDCHED | 573 |
| r-TAP1 | 487: | FAYPNHPNVQVLQGLTFTLYPGKVTALVGPNGSGKSTVAALLQNLVYQPTGGKVLDDGEPLVQYDHYLHHTQVAAAVGQEPVLLFGRSFRENIA YGLTRPTM | 586 |
| Walker A | | | |
| r-TAPL | 606: | EMVVEAAQKANAHGFI MEIQDGYSTETGEKGAQLSGGKQKQVAMARALVRNPVLIIDEATSALDAESEYLIQQAIGHNLQR--HTVLI IAHRLSIVERA | 703 |
| r-TAP2 | 574: | AQVMAAAQAA CADDFIGEMTINGINTEI GERGSQAVGKQRLAIARALVRNRPVLIIDEATSALDAECEQALQ-TWRSQED--RTMIVIAHRLHTVQNA | 669 |
| r-TAP1 | 587: | EEITAVAMESGAHDFISGFPQGYDTEVGETGNQLSGGQRQAVALARALIRKPRLLILDATSALDAGNQLRVQRLLYESPEWASRTVLLITQQLSLAERA | 686 |
| Walker B | | | |
| r-TAPL | 704: | HLIVVLDKGRVVQQGTHOQLLAQGGLYAKLVQRQMLGLEHPLDLYTAGHKPEPSPNTEHKA | 762 |
| r-TAP2 | 670: | DQVLVLKQGQLV-E--HDQLRDEQDVYAHLVQ-QRLEA | 703 |
| r-TAP1 | 687: | HHILFLKEGVSCEQGTHLQLMERGGCYRSMV--EAL-AA-PSD | 725 |

図1 TAP1 と TAP2 の配列比較
 それぞれラットのものの一次構造を比較した。三者で一致する残基には●を、保存的置換した残基には○をつけた。ABCドメインは Walker A と Walker B 配列に挟まれた領域に相当する。

でもアミノ酸残基が保存されているため (図1), TAPLの機能はTAPに類似している可能性が示唆された。

さらにヒトおよびマウス TAPL の cDNA クローニングを行い, 推定一次構造の比較を行った⁴⁾。TAPL のアミノ酸配列をマウスとラットで比べると 99% の残基が一致しているばかりでなく, ヒトと齧歯類とで比較しても約 95% の残基が一致している。この保存性の高さは, ホモログとして良く似ている TAP を構成する TAP1 と TAP2 の場合とは大きく異なっている。TAP1 と TAP2 では, マウスとラットの間で約 90%, ヒトと齧歯類間では 70% 台の一致にとどまっている (図3)。

ヒト, マウス, ラットの TAP1, TAP2 及び TAPL の cDNA の塩基配列をもとに系統樹を作成し比較したところ, TAPL は進化の早い段階で TAP1, TAP2 と共通の祖先遺伝子から派生したことが明白であるだけでなく, TAP1 と TAP2 の遺伝子はそれぞれ分岐してからの塩基置換が激しく進化速度が速いことがわかった⁴⁾。一方, TAPL 遺伝子は, 分岐してからの遺伝的距離が短く進化速度が遅かった。

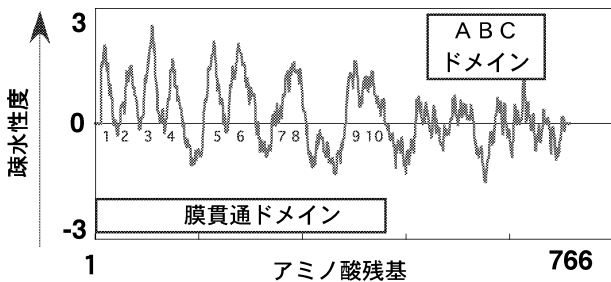


図2 TAPLの親水性・疎水性プロフィール
19残基の平均的な疎水性度をプロットした。推定される膜貫通ヘリックスにはアミノ末端から順に番号をつけた。膜貫通ドメインとABCドメインをボックスで示した。

3. TAPLの遺伝子構造

TAPLのアミノ酸配列が欠失や挿入がほとんどない状態でTAP1やTAP2と類似していることから, 遺伝子の構造, すなわちイントロンの挿入位置も保存されている可能性がある。実際, Na^+, K^+ -ATPase や H^+, K^+ -ATPase のように機能やメカニズムが非常に良く似たポンプATPaseにおいては, 遺伝子構造の保存性が顕著である^{5,6)}。そこで, ヒト染色体DNA由来のBACクローンを鋳型にエクソンとイントロンの境界位置をPCRにより増幅させ, ゲノムプロジェクトのワーキングドラフトとも対応させ, 遺伝子構造を明らかにした。その結果, コード領域には10個のイントロンが挿入され, 5'非コード領域に1個存在するイントロンを含めると, ヒトTAPL遺伝子は合計11個のイントロンにより12個のエクソンに分断されていた (図4)⁷⁾。

TAP1とTAP2についてもゲノム情報を調べた結果, TAP1遺伝子では10個のイントロンが, TAP2遺伝子では11個のイントロンが挿入されていた。TAP2遺伝子の5'非コード領域にイントロンが1個存在する点は, TAPLと似ている。また, 興味深いことに, TAPLとTAP2の3番目から11番目のエクソンの塩基数は完全に一致していた。さらに, 複数の最終エクソンがTAPLとTAP2には存在していた (図4, 後述)。一方, TAP1遺伝子には5'非コード領域にイントロンはなく, 複数のエクソンの使い分けもなされていないが, 2番目から10番目のエクソンのうち9番目を除き, TAPLとTAP2の対応するエクソンの塩基数と一致していた。また, 9番目のエクソンも, TAPLとTAP2で対応する10番目のエクソンに比べ3塩基多いだけであった⁷⁾。

ヒトTAPLのcDNAの3'末端を決定するRT-PCRをHeLa細胞やHEK293細胞を用いて行うと, 3種の異なる

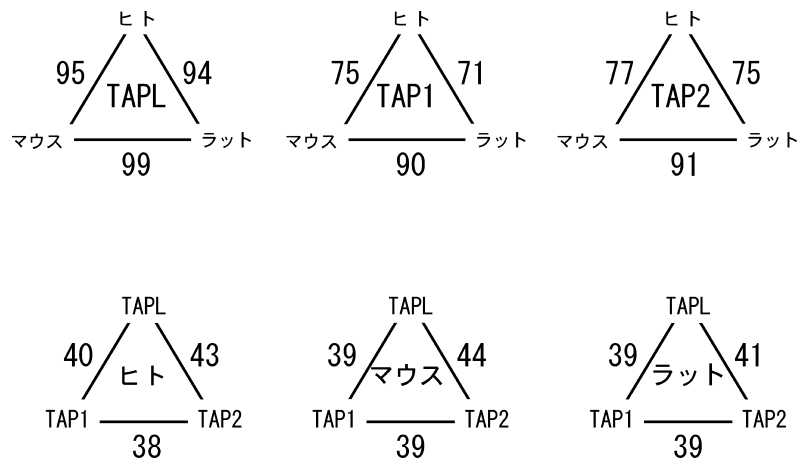


図3 TAPファミリーのメンバー間での保存性
上段には, オルソログのヒトと齧歯類間での保存性を, 下段には, 同じ種のファミリー間での保存性を示した。数値は一致する残基の値を%で示した。

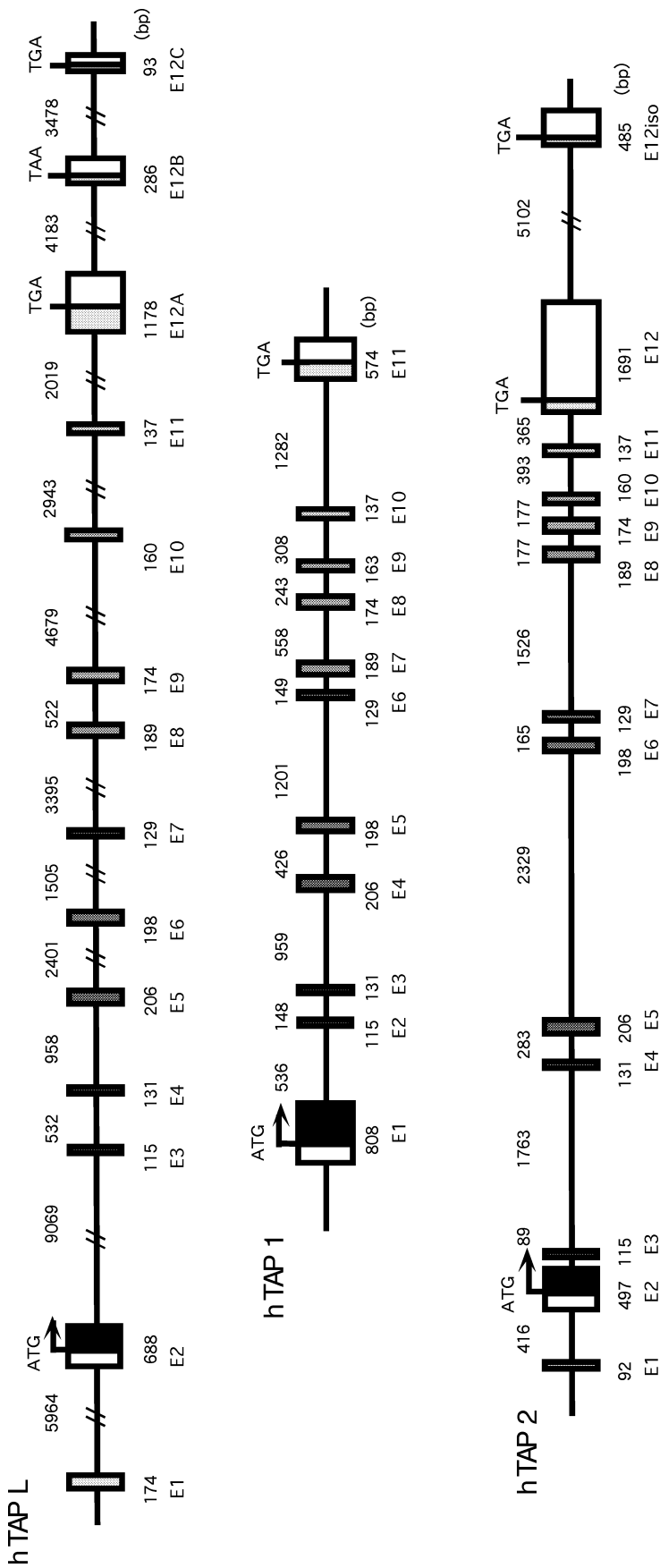


図4 TAPLの遺伝子構造とTAP1, TAP2の遺伝子構造の比較。上側にイントロンの配置を模式的に示した。上側にイントロンの長さ(塩基数)と番号を記載した。TAPLとTAP2はヒトの遺伝子のエキソン、イントロンの配置を模式的に示した。上側にイントロンの長さ(塩基数)と番号を記載した。下側にエキソンの長さ(塩基数)と番号を記載した。TAPLとTAP2ではエキソンの数と塩基数が一致するだけでなく、最終エキソンが複数存在する。

cDNA配列が得られ、それらの配列も遺伝子上に存在することがわかった。推定一次構造は、図1に示したサイズに対応するE12AとWalkerB配列の直後で終わっているE12BとE12Cであり(図5A), C末端をコードする最終エキソンは上流側からこの順に配置されていた(図4)。3種のmRNAはヒト健常人白血球でいずれも発現しており、E12Aの発現レベルが比較的高かった。また、各アイソフォームの発現の強弱には個人差が見られた⁷⁾。

ラットTAPLにおいても複数のC末端の存在が示唆されていたため³⁾, 同様の検討を行ったところ、やはり3種の最終エキソンが存在した(図5B, C)⁸⁾。ヒトと異なるのは、短いC末端をコードするエキソンが上流側に存在することであった。また、短いC末端同士はヒト(E12B, E12C)とラット(C_{II}, C_N)で保存性がなく、ヒトの場合には著しく短いという特徴があった(図5A, B)。この結果より、最初にクローニングした長いTAPL[ヒトE12A(766残基)やラットC_I(762残基)]が一般的なタイプと呼べるものと言える。ラットでは、最終エキソン内部の配列がスプライスされているが(図5C), 切り出される部分の塩基配列がGT-AG則⁹⁾と一致しておらず、*in vivo*で本当に生成し得るのか確認する必要がある。

TAP2にはC末端アイソフォームTAP2isoが存在し(図4), 抗原提示ペプチドの選択性に影響する¹⁰⁾。TAPLの場合にも、アイソフォームは輸送機能や基質の選択に寄与する可能性があり興味深い。

4. TAPLの転写制御

TAP1, TAP2は、ヒト第6染色体短腕のMHC(major histocompatibility complex)クラスII領域(6p21.3)にコードされている。この領域には、MHCクラスII遺伝子のほかにもプロテアソームのサブユニットであるLMP2(low molecular weight protein 2)やLMP7(low

(A)

12A 667 DEATSALDAESEYLIQQAIHG^NLQKHTVLI^IAHRLSTVEH 706
 707 AHLIVVLDKGRV^VQ^QGTHQQLLALGGLYAKLVQRQMLGLQ 746
 747 PAADFTAGHNEPVANGSHKA* 766

12B 667 DEATSALDAESEYLCAG* 683

12C 667 DEATSALDAESEYLI* 681

(B)

C-I 663 DEATSALDAESEYLIQQAIHG^NLQRHTVLI^IAHRLSTVER 702
 703 AHLIVVLDKGRV^VQ^QGTHQQLLAQGGLYAKLVQRQMLGLE 742
 743 PLDYTAGHKEPPSNTEHKA* 762

C-II 663 DEATSALDAESEYLIQQAIHG^NLQRHTVLI^IAHRLSTVER 702
 703 AHLIVVLDKGRV^VQ^QGTHLPLLSTPATLQRNLVCKMYSQI 742
 743 GGGDRGNAQGLALSWFKILGELGO* 766

C-III 663 DEATSALDAESEYLVALADLKYREIHSPQD* 693

C-IV 663 DEATSALDAESEYLSEAQTPGLEHTPHPATTAWLEATLSP 702
 703 KPGCQG* 708

(C)

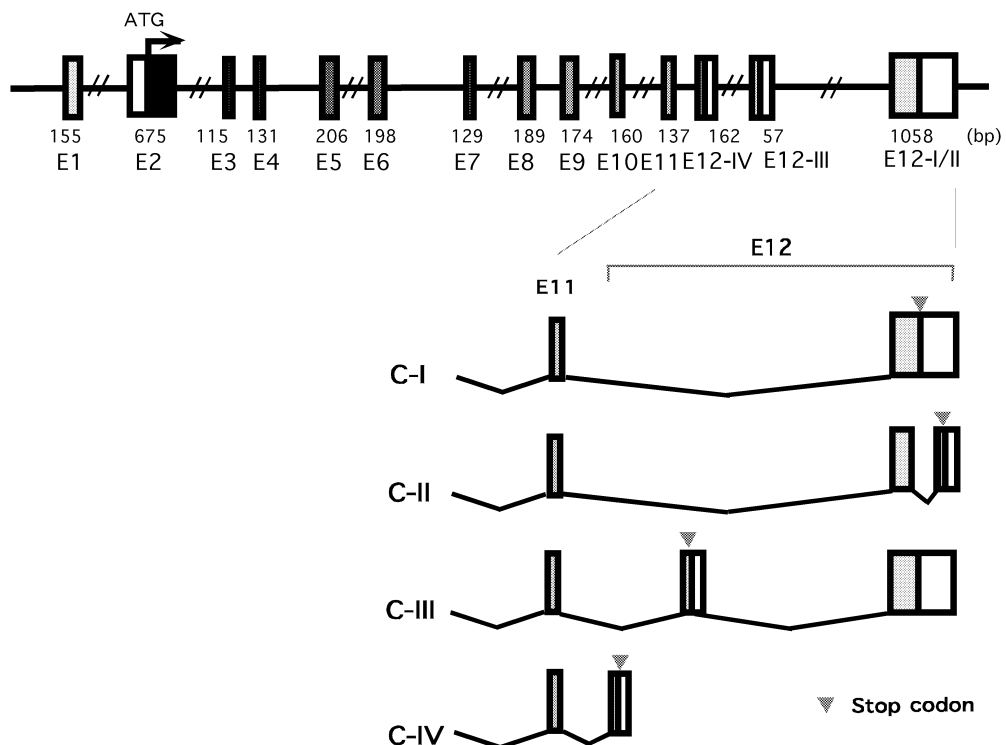


図5 TAPLのスプライシングアイソフォーム

ヒトとラットTAPLのスプライシングアイソフォームのC末端配列を示した(それぞれA, B)。また,ラットTAPL遺伝子の下流のエキソン11と12の間でスプライシングが起きる様子を,模式的に示した(C)。終止コドンの位置を黒の逆三角印で示している。エキソン11に由来するアミノ酸配列はボックスで囲んで示した。

molecular weight protein 7) などのように抗原処理に関与する遺伝子群がクラスターを形成して存在している。これらの遺伝子はみな IFN (interferon)- γ で転写誘導されるなど制御の面でも協調している¹¹⁾。一方、遺伝子構造は似ているが *TAPL* は *TAP 1*, *TAP 2* とは全く異なり、第12染色体長腕の 12q24.31-q24.32 にコードされていた。このような遺伝子の存在部位の違いと対応して、HEK293 などヒト培養細胞を用いて検討したところ、*TAPL* は IFN- γ による転写誘導を受けなかった⁴⁾。

ヒト *TAPL* 遺伝子の転写制御様式を明らかにするため転写開始点より上流 1,109 塩基までの領域をルシフェラーゼ遺伝子上流に連結し、HEK293 細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイを行った。その結果、段階的に 61 塩基までの短い配列に欠失させても、十分なプロモーター活性が検出された⁷⁾。210 塩基までの上流領域には GC-box 配列 (CCGCC) が 6 個、200 塩基より上流には E-box 配列 (CANNTG) が 13 個も存在する。*TAPL* は精巣や脳で mRNA が高発現しているものの、他の臓器にも発現が見られている^{3,12)}。このような広範囲な発現特性は、*TAPL* 遺伝子の転写制御部位に多くの GC-box や E-box が存在することを反映しているのかも知れない。また、IFN- γ による転写誘導を受けないことと一致して、*TAPL* 遺伝子上流配列には、*TAP 1* や *TAP 2* 遺伝子の場合と異なり、インターフェロン応答性配列 [(C/G) AAAAG (C/T) GAAACC] は存在しなかった。

5. *TAPL* の細胞内局在

ヒトの ABC 輸送体は 49 種類あり、A から G の七つのサブファミリーに分類できる (図 6)¹⁾。*TAPL* は *TAP* とともに B サブファミリーに分類され、*ABCB9* と呼ばれる。11 種類のメンバーで構成される B サブファミリーは、ポリペプチド、脂質、鉄など塩基性化合物の輸送に関与することが示唆されている。これらのうち、複数の構造が報告されている *ABCB5* を除き、7 種がハーフタイプで、3 種がフルタイプの ABC 輸送体である。ハーフタイプは細胞小器官に局在する例が多く、一方フルタイプは一般に細胞膜に発現する。

ハーフタイプ 4 種 (*ABCB6*, 7, 8, 10) はミトコンドリアに発現し、ヘム (*ABCB6*, 7, 8) やペプチド (*ABCB8*, 10) の細胞質への輸送に関与している。また、他の 2 種 (*ABCB2*, 3) は *TAP* 複合体として小胞体に発現し、細胞質のペプチドを小胞体内腔に輸送し MHC クラス I 分子に結合させる。フルタイプの輸送体 (*ABCB1*, 4, 11) のうち、P 糖タンパク質とも呼ばれる *ABCB1* は、抗がん剤に対する耐性に寄与し、種々の臓器の細胞の頂端膜に発現し薬物を排出する。*ABCB4* はリン脂質フリッパーゼとして、また *ABCB11* は胆汁酸塩の排出に働くが、共に肝細胞膜の頂端膜側に局在する¹³⁾。

TAPL は当初、*TAP* のサブユニットと同様に小胞体に局在する可能性を報告したが^{4,14)}、これは一過的な過剰発現を見ていたため、安定発現株を用いた解析によりリン

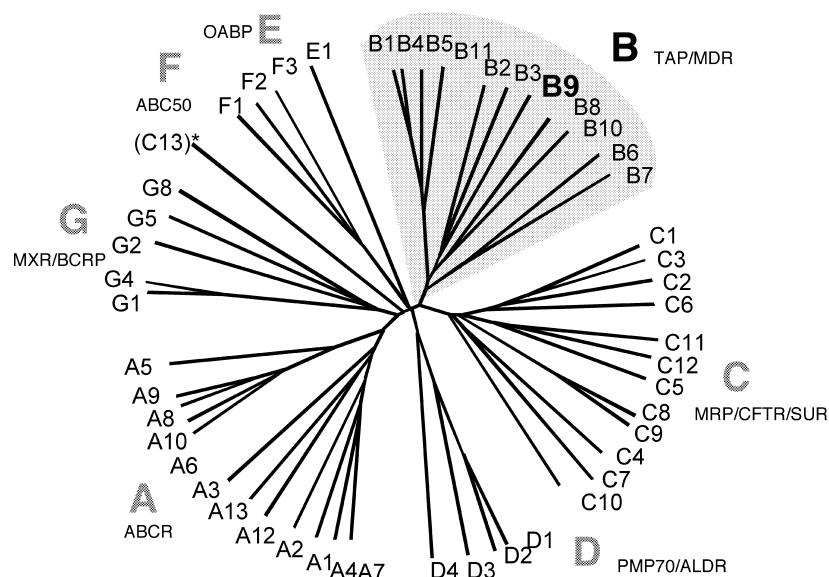


図 6 ヒト ABC 輸送体の分類

ヒトには 49 種類の ABC 輸送体が存在し、それらは A~G の七つのサブファミリーに分類される。図には近縁関係を模式的に示した。C13* はデータベースの登録配列が ABC ドメインを欠いており離れている。各ファミリーに代表的な ABC 輸送体も記した。

ソームに局在することが明らかになった (投稿準備中). マウスの精巣では, リソソームの発達したセルトリ細胞で TAPL タンパク質が内在的に高発現していることが示されている¹¹⁾. ヒト卵巣がん細胞 (SKOV 細胞) にヒト 12A タイプを安定発現させると, 免疫染色像及び細胞分画によりリソソームに TAPL タンパク質が検出された¹¹⁾. CHO-K1 細胞に発現させた場合でも, 同様の結果を筆者らは得ている.

6. TAPL の二量体形成能

TAPL はハーフタイプの ABC 輸送体であるため, 二量体を形成して機能すると予想される. 実際, 昆虫細胞にラット TAPL のみを安定発現させた時, 架橋剤を用いた架橋実験を行うと, 膜に存在する時も界面活性剤で可溶化した時にも TAPL は架橋され, 二量体を形成することが示唆された (投稿準備中). また, TAPL はホモ二量体でペプチド輸送活性を示すことも報告された¹⁵⁾. ジヒドロ葉酸脱水素酵素を利用した *in vivo* における相補アッセイによっても, TAPL はホモ二量体を形成し, TAP1 と TAP2 は両者のヘテロ二量体を形成するという結論が得られている¹⁶⁾.

7. ペプチド輸送体としての TAPL

一部のハーフタイプの ABC 輸送体には, ABC ドメインの N 末端より上流側に基質結合の特徴を示すモチーフ配列を認めることができる. 脂質結合に関係するとされるペルオキシソームの ALDP や PMP70 の配列とは異なり, TAPL の場合には TAP1 や TAP2 の推定ペプチド結合配列が対応する位置に保存されていた (図 7)⁴⁾. また, 輸送されるペプチドの近傍に位置する TAP のアミノ酸配列も

TAPL では保存されていた (²⁸²TGDLISRLTSD²⁹²)¹⁷⁾. このような特徴からも, TAPL は TAP と同様にペプチド輸送能を有することが示唆される.

実際, TAPL をバキュロウイルス発現系により昆虫細胞に発現させ, そのミクロソーム画分を用いると, ATP の水解に依存して内腔側にペプチドが輸送される¹⁵⁾. このペプチド輸送はヌクレオチドの中では ATP に特異性が高く, 100 μ M の ATP 濃度で最大速度に達するので十分細胞内で起き得る反応である.

TAPL も TAP も, N 末端と C 末端が遊離している L-アミノ酸からなるペプチドを輸送するのは共通である. TAP と TAPL の興味深い違いは, TAP が 8~12 残基のペプチドを輸送するのに対して, TAPL の場合は 23 残基程度のペプチドがより輸送されやすい傾向はあるものの, 6~59 残基の様々な長さのペプチドを輸送することである¹⁵⁾. 嵩高い蛍光標識で内側の残基を修飾しても輸送される点は TAP でも共通してみられ, 生体内でも修飾を受けたペプチドが基質となる可能性がある. TAP のペプチド結合は高親和性 (100~300nM) であるが, TAPL の場合には同様の結合実験ができない程弱い. TAPL のペプチド輸送は低親和性で (K_m 値は 6.8 μ M と高い), ペプチドが細胞質にあれば TAPL の局在するオルガネラ内腔に恒常的に輸送可能と考えられる. TAP の機能にはタパシンが必要だが, TAPL の機能する臓器・細胞に輸送活性を制御する相互作用因子が存在するかどうかは明らかではない.

TAPL を酵母に発現させたところ, ペプチド性薬物に対する感受性が増大した¹⁸⁾. この現象には, 正常な ABC ドメインが必要であり, 薬物の細胞内の蓄積と作用に, TAPL の機能がどのように関与しているのか興味深い.

| | | |
|---------|------------------|---------|
| hTAPL | TVRSFANEEEEAEVY | 364-378 |
| hTAP1 | TVRSFANEEGGEAQKF | 376-390 |
| hTAP2 | TVRSFGAEEHEVCRY | 341-355 |
| hABCB10 | TVRSFGKEMTEAEKY | 352-366 |
| HAF4 | TVRSFSCENVEADRF | 356-372 |
| HAF9 | TVRSFACENYESSRF | 382-396 |
| HAF2 | TVRSFACEKKELKRF | 375-389 |
| hPMP70 | NSEEIAFYNGNKREK | 275-288 |
| hALDP | NSEEIAFYGGHEVEL | 289-302 |

図 7 推定ペプチド結合ドメインの配列比較

ヒト TAP1, TAP2 の推定ペプチド結合ドメインの一部のアミノ酸配列を TAPL と比較した. また, ペルオキシソーム膜の ABC 輸送体の配列 (EEA-like motif の一部に相当) とも比較した. ペプチド輸送体である ABCB10 および線虫 TAPL ホモログ (HAF2, HAF4, HAF9) も比較のために示している.

8. TAPLの生理機能

TAPのような小胞体に局在するABC輸送体ではないので、TAPLがMHCクラスI分子へのペプチド結合に役割を果たすとは考え難い。一方、TAP非依存に、内在性タンパク質由来のペプチドをMHCクラスII分子へ提示するシステムの存在が示唆されている¹⁹⁾。リソソームに局在するTAPLがこのような機能に関与しているのかどうかは興味深い。しかしながら、内在性のTAPLタンパク質の発現量が高い精巣のセルトリ細胞にはMHCクラスII分子は殆ど発現していないので¹²⁾、現時点ではその可能性を積極的に支持する証拠はない。

TAPが獲得性免疫機構を持つ生物にのみ存在するのに対し、TAPLに類似したABC輸送体遺伝子は獲得性免疫を持たない生物にも存在する。免疫系の進化を系統発生から議論する際に重要な、無顎類のヤツメウナギでもTAPLに類似した遺伝子が見いだされている²⁰⁾。

ホモログの機能を遺伝学的手法と合わせ明らかにすることは、TAPLの生理機能を解明するのにも役立つと考えられ、筆者らのグループは、ホモログ遺伝子を欠損した線虫の表現型を解析することに着手した。60種に及ぶ線虫ABC輸送体のうち²¹⁾、Bサブファミリーだけでも24種類あり、そのうち9種類のハーフタイプの中に全長にわたってTAPLによく似た遺伝子は3種(HAF-2, HAF-4, HAF-9)存在する(図8)。それらの発現臓器は哺乳類TAPLとは異なり、特徴的な臓器発現パターンを示すが、いずれも細胞内では小胞輸送系に局在することを確認している。いくつかの欠失変異体では小胞輸送系の異常と発育異常が観察されるため、現在詳細な解析を進めている。

9. おわりに

ホモロジークローニングで得られたTAPL以外に、類似するABC輸送体はヒト全ゲノム配列解読後も見いだされ

なかったため、TAP1とTAP2にTAPLを加えた三者を、筆者らを含め「TAPファミリー」と呼んでいる。表1には、TAPとTAPLを比較した結果をまとめた。TAPLの機能については近年生化学的な解析結果が報告され始め、ペプチド輸送能を有することは証明された。TAPLは、TAPのようなMHCクラスI分子へのペプチド結合に関与することは示されておらず、細胞質で生成した種々の長さのペプチドをリソソーム内腔へと輸送している可能性が高い。しかし、生理的役割までは解明されておらず、細胞外へ分泌される分子機構が不明の生理活性ペプチドの濃縮や分泌に関わっているのかなど興味深い検討すべき事項が残されている。線虫を用いた遺伝学的、分子生物学的解析が解決の糸口を提供してくれることを期待している。また、TAPL遺伝子が疾病と関連するかどうかは今の所不明であるが、日本人にはTAPLに21箇所一塩基多型が見つまっている²²⁾。それらの多型が疾病傾向や薬物治療に対する応答性に関連するかどうかとも、興味深い。

文 献

- 1) Higgins, C.F. (1992) *Annu. Rev. Cell Biol.*, 8, 67-113.
- 2) 清野 進 (1999) 最新医学, 54, 349-351.
- 3) Yamaguchi, Y., Kasano, M., Terada, T., Sato, R., & Maeda, M. (1999) *FEBS Lett.*, 457, 231-236.
- 4) Kobayashi, A., Kasano, M., Maeda, T., Hori, S., Motojima, K., Suzuki, M., Fujiwara, T., Takahashi, E., Yabe, T., Tanaka, K., Kasahara, M., Yamaguchi, Y., & Maeda, M. (2000) *J. Biochem.*, 128, 711-718.
- 5) Maeda, M., Oshiman, K.-I., Tamura, S., & Futai, M. (1990) *J. Biol. Chem.*, 265, 9027-9032.
- 6) Maeda, M., Oshiman, K.-I., Tamura, S., Kaya, S., Mahmood, S., Reuben, M.A., Lasater, L.S., Sachs, G., & Futai, M. (1991) *J. Biol. Chem.*, 266, 21584-21588.
- 7) Kobayashi, A., Hori, S., Suita, N., & Maeda, M. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 309, 815-822.
- 8) Yamaguchi, Y., Iseoka, H., Kobayashi, A., & Maeda, M. (2004) *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 100-104.

| ABCB6 | ABCB7 | ABCB8 | ABCB10 | hTAP1 ABCB2 | hTAP2 ABCB3 | hTAPL ABCB9 | | | |
|-------|-------|-------|--------|----------------|----------------|----------------|------|------|------|
| 21 | 20 | 27 | 28 | 26 | 30 | 35 | HAF2 | | |
| 21 | 21 | 29 | 27 | 30 | 33 | 38 | 40 | HAF4 | |
| 20 | 20 | 28 | 30 | 28 | 30 | 38 | 42 | 47 | HAF9 |

図8 線虫TAPLホモログとヒトABC輸送体サブファミリーBメンバーの比較
ヒトABC輸送体サブファミリーBのハーフタイプのメンバーと線虫TAPLホモログの推定アミノ酸配列を比較し、一致する残基の割合を%で示した。いずれの線虫ホモログもTAPLと相関性が高い。

表1 TAPとTAPLの比較

| | TAP (TAP1/TAP2) | TAPL |
|----------------------------|---|---|
| 構成 | ヘテロ二量体 | ホモ二量体 |
| ゲノム | ヒト: 6p21.3 (MHC 領域) | ヒト: 12p24.31-32 |
| アイソフォーム | TAP2にC末端 splicing isoform ヒト: TAP2とTAP2iso | 多くのC末端 splicing isoform ヒト: TAPL12A, 12B, 12C |
| 発現 (組織) | 多くの組織で発現 ラット: 胸腺での高発現 | 多くの組織で発現 ラット: 精巣での高発現 |
| 発現 (誘導) | IFN- γ に応答 | IFN- γ には非応答, 熱ショックや小胞体ストレスでも誘導されない |
| MHC細胞内局在 | 小胞体 | リソソーム |
| 基質ペプチド (<i>in vitro</i>) | 8-11 アミノ酸残基からなる鎖状ペプチドで最適, 基質となる長さの幅は狭め, L体を認識, 側鎖修飾も可, 基質に強い親和性 | 6-59 アミノ酸残基からなる鎖状ペプチドまで, 幅広い基質の長さに対応, L体を認識, 側鎖修飾も可, 基質に弱い親和性 |
| 基質の産生 | プロテアソームで分解された感染ウイルス由来のペプチド | 不明 |
| 相互作用因子 | タバシン | 不明 |
| 生理機能 | ウイルス感染防御 (MHCクラスI拘束性抗原提示) | 不明 (抗原提示との関わりもまだわからない) |
| ホモログ (無脊椎動物) | TAPとのホモロジーはTAPLほど高くない | TAPLに高いホモロジー |
| 疾患との関連 | MHCクラスI欠損症 (慢性肺・皮膚炎症) | 不明 |

- 9) Breathnach, R. & Chambon, P. (1981) *Annu. Rev. Biochem.*, 50, 349-383.
- 10) Yan, G., Shi, L., & Faustman, D. (1999) *J. Immunol.*, 162, 852-859.
- 11) Ma, W., Lehner, P.J., Cresswell, P., Pober, J.S., & Johnson, D. R. (1997) *J. Biol. Chem.*, 272, 16585-16590.
- 12) Zhang, F., Zhang, W., Liu, L., Fisher, C.L., Hui, D., Childs, S., Dorovini-Zis, K., & Ling, V. (2000) *J. Biol. Chem.*, 275, 23287-23294.
- 13) Dean, M., Rzhetsky, A., & Allikmets, R. (2003) in ABC Proteins: From Bacteria to Man (Holland, I.B., Cole, S.P.C., Kushler, K., & Higgins, C.F. eds.), pp. 47-61, Academic Press, London.
- 14) Kobayashi, A., Maeda, T., & Maeda, M. (2004) *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 1916-1922.
- 15) Wolters, J.C., Abele, R., & Tampé, R. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 23631-23636.
- 16) Leveson-Gower, D.B., Michnick, S.W., & Ling, V. (2004) *Biochemistry*, 43, 14257-14264.
- 17) Herget, M., Oancea, G., Schrodt, S., Karas, M., Tampé, R., & Abele R. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 3871-3880.
- 18) Ohashi-Kobayashi, A., Ohashi, K., Du, W.-B., Omote, H., Nakamoto, R., Al-shawi, M., & Maeda, M. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 343, 597-601.
- 19) Dani, A., Chaudhry, A., Mukherjee, P., Rajagopal, D., Bhatia, S., George, A., Bal, V., Rath, S., & Mayor, S. (2004) *J. Cell Sci.*, 117, 4219-4230.
- 20) Uinuk-ool, T.S., Mayer, W.E., Sato, A., Takezaki, N., Benyon, L., Cooper, M.D., & Klein, J. (2003) *Immunogenetics*, 55, 38-48.
- 21) Sheps, J.A., Ralph, S., Zhao, Z., Baillie, D.L., & Ling, V. (2004) *Genome Biol.*, 5, R15.
- 22) Saito, S., Iida, A., Sekine, A., Miura, Y., Ogawa, C., Kawauchi, S., Higuchi, S., & Nakamura, Y. (2002) *J. Hum. Genet.*, 47, 38-50.