

GTP 結合蛋白質

GTP-binding protein

池田寛子, 大久保淳子, 扇澤美千子, 兒玉歩, 野口榮太郎, 會川義寛

Hiroko IKEDA, Junko OKUBO, Michiko OUGIZAWA, Ayumi KODAMA, Eitaro NOGUCHI, Yoshihiro AIKAWA
(福島県立医科大学, 東京衛生学園, 筑波技術短期大学, お茶の水女子大学)

1. はじめに

外界からの刺激に対する細胞の応答には、まず、細胞活動の化学的調節を行なふ代謝変化と、物理的調節を行なふ形態変化(「形ケイ」がかたち、「態タイ」がうごき)とがある。これらは飽くまでも調節であり、機能の変化であつて、細胞にとっては日常茶飯事であり、細胞としては本質的な変化ではない。細胞質において行なふ。

これに対し、細胞自身の量的変化である細胞増殖(負の増殖である細胞死を含む)と、質的变化である細胞分化は、細胞自身にとって本質的な不可逆変化であり、細胞およびこれを含む組織としてはこれを行なふには大変な決心が要ることである。前者は核酸の複製(および切断)が、後者は転写が直接関与する。いづれも核において行なはれたのちに、細胞質においてその成果が現はれる。したがつてこの種の応答は細胞質での調節に較べて遅い。

機能の調節

- ① 化学的調節 (代謝変化)
- ② 物理的調節 (形態変化)

構造の変化

- ① 量的変化 (細胞増殖・細胞死) 複製・切断
- ② 質的变化 (細胞分化) 転写

外界からの刺激情報は、細胞膜表面にある受容体から細胞膜裏面に、それから細胞質へ、必要があればさらに細胞質から核へ、と傳達される。この情報傳達経路の中の、細胞膜裏面(これを以下、細胞膜内側表面と呼ぶ)の段階において、その情報に応じてスイッチをON, OFFする素子として、GTP結合蛋白質(以下、G蛋白質と略)が知られてゐる。

このG蛋白質は、これにGTPが結合してゐる状態がON状態、GDPが結合してゐる状態がOFF状態となるものである。

G蛋白質のN末端部Cysにはpalmitoyl鎖が、C末端部Cysにはisoprenyl鎖が、チオエーテル結合にて附着してをり、これが細胞膜内側表面上への2次元束縛子 anchorとなつて、G蛋白質の細胞膜内側表面への附着を保証してゐる。

本稿では、この細胞膜内側表面でのスイッチであるGTP結合蛋白質の性質を、出来る限り単純化して解説したい。

2. ON, OFFの切換

上述した様に、G蛋白質のON状態は「G蛋白質・GTP複合体」であつて、「G蛋白質のGTPによる磷酸化物」ではない。この点がATPの場合の酵素磷酸化による活性化と異なつてをり、GTP結合蛋白質の名称の所以となつてゐる。

ON状態からOFF状態への遷移は、G蛋白質に結合したGTPのGDPへの加水分解による。これにより「G蛋白質・GTP複合体(ON状態)」はGTPを取り外すことなく「G蛋白質・GDP複合体(OFF状態)」になる。この加水分解を行なはせてOFF状態にする因子をGAP(GTPase activating protein)といふ。

逆に、OFF状態からON状態にするには、可能性として、「G蛋白質・GDP複合体(OFF状態)」のGDPを磷酸化して、「G蛋白質・GTP複合体(ON状態)」にするといふ方式も考へられるが、これは取らない。まず、G蛋白質にくっついてゐるGDPをはずす。すると、細胞質内に豊富に

存在するGTPが直ちにG蛋白質に結合する。その結果、「蛋白質・GTP複合体(ON状態)」になる。したがつて、G蛋白質をON状態にする仕事は単にGDPをはずすだけである。これを行なふ因子をGEF(G exchange factor)といふ。したがつて、G蛋白質のスイッチを入れるのはGEF、切るのはGAPといふことになる。

3. 細胞質での調節とGTP結合蛋白質

細胞表面には主に7回貫通型受容体と1回貫通型受容体の2種類の受容体がある。細胞活動の化学的調節(代謝変化)は7回貫通型受容体が、物理的調節(形態変化)は1回貫通型受容体が受け持つてゐる。

GTP結合蛋白質(G蛋白質)には、分子量のやや大きい三量体GTP結合蛋白質 trimeric GTP-binding protein と、分子量の小さい単量体GTP結合蛋白質 monomeric GTP-binding protein とがある。7回貫通型受容体はもつぱら三量体GTP結合蛋白質を直接活性化す。1回貫通型受容体は単量体GTP結合蛋白質を間接的に活性化す。

以上の大体の原則を前提に、ふたつの細胞質における調節を見てみよう。

(1) 化学的調節(代謝変化)

7回貫通型受容体は三量体GTP結合蛋白質をON状態にすることにより、細胞質内の既存蛋白質をPK(protein kinase)で磷酸化修飾して、細胞の代謝に影響を与へる。PKとしてはPKA, PKB, PKC, CaMKなどがある。

三量体GTP結合蛋白質は、G α (43 kD), G β (35 kD), G γ (8 kD)の3つのsubunitからなる。このうちGTPが結合するのはG α である。したがつて、G α こそが眞のGTP結合蛋白質であるとも言へよう。

G β とG γ は生理的条件のもとでは解離することはないのでG $\beta\gamma$ として一緒に扱ふ。その分子量はG α とほぼ等しい(43 kD)。

G α のN末端部Cysはpalmitoyl化、G γ のC末端部Cysはisoprenyl化されてゐる。したがつて、たとへばG α とG $\beta\gamma$ とに分離したとしても、いづれも細胞膜内側表面上への附着は保証されてゐる。

三量体GTP結合蛋白質のGEFは、7回貫通型受容体がみづから務める。したがつて7回貫通型受容体をG蛋白質連結型受容体G-protein linked receptorともいふ。GAPは、G α 自身もその能力がないではないが単独では数分も要するほどその活性が弱いので、RGS(regulator of G protein signaling)がこれを行なふ。

三量体GTP結合蛋白質は、活性化した(ON状態の)G α の仕事内容により、大きく2つに分けられる。

① PKA型

この型のG α は細胞膜内側表面にあるA cyclaseを活性化または抑制して、cAMP濃度を増加または減少させる。前者のG蛋白質をGs、後者をGiといふ。

cAMPは水溶性小分子で、細胞膜内側表面上から細胞質内に拡散する。その細胞質内濃度がアナログ情報となつてゐる。細胞外のシグナル分子と対比して、第2メッセンジャーといはれることもある。

PKA(protein kinase A)は調節subunit 2個と触媒subunit 2個からなる複合体である。各調節subunitにはそれぞれ2つ、すなはち1個のPKA当り4つのcAMPが結合する部位がある。この4つの部位がすべてcAMPで占有されるとPKAは活性化して、2個の触媒subunitを解離放出する。

これが他の酵素を磷酸化し、代謝を調節する。

PKA の活性化は4個の cAMP は協同作用なので、ある cAMP 濃度において突然生ずる。すなはち、cAMP 濃度といふアナログ情報は、PKA によつて AD 変換されてデジタル情報となる。

感覚受容体のうちの嗅覚 G_{olf} は G_s に、視覚 G_v と味覚 G_g は G_i に分類される。

cholera toxin は G_s の GTP をはずれなくしてその機能を障碍し、pertussis toxin は G_i の GDP をはずれなくして機能を障碍する。

G_i の $\beta\gamma$ 部は K^+ channel を直接開口する機能を有する。これを特徴とする場合の G_i を G_K と称することがある。神経細胞に見られる G_o などはこれである。

G_s (cholera toxin) :	嗅覚 G_{olf}
G_i (pertussis toxin) :	視覚 G_v , 味覚 G_g ($\beta\gamma$ 部: G_K, G_o)
① $G\alpha$	ON, OFF
② A cyclase	増幅 (アナログ化)
③ cAMP	傳播 (細胞質内へ)
④ PKA	AD 変換 (デジタル化)

② PKC 型

この型の G 蛋白質を G_q といふ。ON 状態になった $G\alpha$ は、これもまた A cyclase と同様に細胞膜内側表面上に存在する PLC- β (phospholipase C- β) を、活性化する。PLC- β は、PI (phosphatidyl inositol) の bis 磷酸化物を C の位置で加水分解する lipase である (注1)。

ここで、PI (phosphatidyl inositol) ならぬ、PI の bis 磷酸化物と言つたが、これは以下の次第による。すなはち、Ino (inositol) は Ino = (LLDLD) の環状構造を持つが、phosphatidyl 基がこの Ino の 1 位につくことによつて、PI (phosphatidyl inositol) = (PLLDD) なる磷脂質となつてゐる。ところがこれに PI kinase が作用すると、PI の Ino の 4 位を磷酸化して PIP = (PLLPLD) となる。さらにこれに PIP kinase が作用すると、PIP の Ino の 5 位を磷酸化して PIP₂ = (PLLPPD) となる。これが PI の bis 磷酸化物 PIP₂ である。細胞膜内面の PI はその 1 割程度が bis 磷酸化されて PIP₂ になつてゐる。これが PLC- β によつて C の位置で加水分解されるのである。D の位置でなく、C の位置で加水分解されるので、phosphatidyl 基の磷酸はそのまま Ino 側に残り、IP₃ (inositol-1,4,5-trisphosphate) = (PLLPPD) となり、これは水溶性小分子なので細胞質内に拡散していく。

PI (phosphatidyl inositol) から Ino (inositol) が取れた残りの部分である DAG (diacyl glycerol) は、そのまま細胞膜内側表面に留まつてゐる。これが PKC (protein kinase C) を結合して活性化する。その際、同じく細胞膜内側表面にある PS (phosphatidyl serine) の助けが必要である (Ca^{2+} もあつた方がよい)。PKA, PKC 両 kinase が磷酸化する標的蛋白質は (ほぼ) 完全に異なつてゐる。

G_q	
① $G\alpha$	ON, OFF
② PLC- β	
③ DAG	※ 同時に IP ₃ を放出
④ PKC	

一方、細胞質内に拡散していつた IP₃ は、小胞体膜上の IP₃-gated Ca^{2+} channel を開口する。その結果小胞体より Ca^{2+} が放出される。 Ca^{2+} は cAMP と同じく第2メッセンジャーと言はれる。

細胞質内における Ca^{2+} イオンの作用は calmodulin (18 kD) によつて AD 変換される。すなはち、calmodulin には

Ca^{2+} 附着部位が4つあり、 Ca^{2+} 濃度のアナログな変化は calmodulin 構造のデジタルな変化として反映される。細胞内 Ca^{2+} がある濃度以上になると calmodulin は Ca^{2+} 4 個と突然結合して変形し、CaM kinase に巻き付いてこれを活性化する。筋細胞における troponin C (18 kD) は calmodulin の 1 変形である。

Ca^{2+} イオン	
① 小胞体	Ca^{2+} 貯蔵
② Ca^{2+} channel	開口 (IP ₃ -gated)
③ Ca^{2+} イオン	傳播 (細胞質内へ)
④ calmodulin	AD 変換 (デジタル化)
⑤ CaMK	

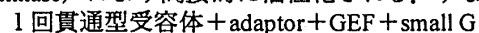
(2) 物理的調節 (形態変化)

細胞の形態変化は、単量体 GTP 結合蛋白質である Rho の ON, OFF により行なはれる。小胞輸送状態の変化は、同じく単量体 GTP 結合蛋白質である Rab により行なはれる。微小管の単量体である tubulin も GTP 結合蛋白質である。これに対し、細い filament の単量体である G-actin や、motor protein である myosin, kinesin は、ATP 結合蛋白質である。

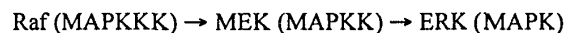
4. 核が関与する変化と GTP 結合蛋白質

単量体 GTP 結合蛋白質の大きさ (22 kD) は、三量体 GTP 結合蛋白質全体の 1/4 に過ぎない。このため単量体 GTP 結合蛋白質を small G と呼ぶ。small G の C 末端部 Cys は isoprenyl 化されてをり、これにより膜表面に 2 次元的に束縛されてゐる。

単量体 GTP 結合蛋白質 Ras は 1 回貫通型受容体 (receptor Tyr kinase) により間接的に活性化される。すなはち、



といふ形式で情報傳達が行なはれる。ここで、adaptor (Grb-2) は、その SH2 部位で磷酸化 Tyr と、SH3 部位で GEF (Sos) の多 Pro 領域と結合して、受容体の磷酸化 Tyr と GEF とを連結する。そして Ras は MAP kinase cascade, すなはち、



を稼働する。活性化した ERK は核内に移動し、転写因子を活性化して遺傳子の発動を誘導する。

5. おほりに

細胞内外の各情報系は、細胞膜上の受容体によつて接続される。その際、細胞内情報傳達系において G 結合蛋白質が要の役割をしてゐる。同様に、細胞内外の機械力傳達系は、これもまた細胞膜上の一種の受容体である integrin などを通じて相互に接続され、細胞外では collagen などの細胞外基質繊維が、細胞内では actin などの細胞骨格繊維が、これに (間接的ではあるが) 接続してゐる。さらにこれらの内外それぞれの情報系と機械系とは相互に影響しあつてゐる。したがつて、機械力傳達系と情報傳達系とは大きく見れば本来同一の役割を担つてゐる。勿論、免疫応答受容体や細胞接着分子などもこの範疇に入るものである。これらの全体像を統一して把握する観点が必要であらう。

注1.

PL (phospholipase) の加水分解対象になる磷脂質のエステル結合は、A₁, A₂, C, D の4カ所ある。

A₁, A₂, C はいづれもグリセリンの3つの水酸基に基づくエステル結合で、それぞれ、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、磷酸の3つの酸とのエステル結合を指す。

D は磷酸の Ino (inositol) や Ser (serine), EA (ethanol amine) などの水溶性アルコールとのエステル結合である。

EA を 3Me 化した Choline は細胞膜外側にしかないので細胞内 PL の対象にはならない。