

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## 研究成果報告書

## (1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

## (2) 研究代表者

氏名：佐藤 毅

所属機関名・部局名・職名：京都薬科大学・基礎科学系・教授

## (3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

1 回膜貫通型受容体膜貫通-膜近傍部位の構造解析

## (4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：北條裕信 (研究室名：蛋白質有機化学研究室)

## (5) 研究成果の概要 (公開)

\*背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内 で記載。

膜タンパク質を膜貫通部位の数で分類した場合、1 回膜貫通型タンパク質が最も多くを占める。このような 1 回膜貫通型タンパク質には、受容体型チロシンキナーゼ (RTK) やサイトカイン受容体等、細胞情報伝達機構において重要な役割を担うものが多いが、構造生物学的研究においては、高難度の研究対象とされる。全長での結晶化が困難であることが、最も大きな原因とされるが、最近の研究では、これらタンパク質は生体膜に存在する様々な脂質と相互作用し、協奏することで機能を発揮することがわかってきており、構造解析もそのような脂質の影響を加味しなければならず、求められるレベルは高い。本研究は上皮増殖因子受容体(EGFR)、線維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)、discoidin domain receptor (DDR)、Notch 受容体等の 1 回膜貫通型受容体をターゲットとして、その膜貫通-膜近傍部位と様々な脂質との相互作用に注目しながら、当該部位の構造、そして受容体の活性化機構の解明を目指すものである。23 年度は EGFR に関して、進展があったので報告する。

EGFR の機能は脂質との相互作用で制御されることも明らかとなってきた。EGFR は RTK で唯一人工脂質二重層 (以下、膜と称する) 中に再構成され、脂質組成が活性制御に関与することが示されている。具体的にはラフト様マイクロドメインを構成する脂質から構成される膜中において ganglioside GM3 非存在下で EGFR はリガンド結合依存的活性を、GM3 存在下においては常時非活性を示すことが明らかとなっている<sup>1)</sup>。さらに、ヒト EGFR は非活性時に、細胞外領域が膜に結合、横たわることも示されている<sup>2)</sup>。細胞膜の outer leaflet に存在する GM3 と細胞外領域の相互作用が活性制御に関与する可能性があるが、構造化学的にこのメカニズムは明らかとされていない。本研究では、EGFR 細胞外膜近傍-膜貫通-細胞質内膜近傍(EJM-TM-IJM)部位と GM3 との相互作用に注目しながら EGFR 機能発現における膜との協奏機構の一端を明らかとしていくこととした。

今回は分子動力学(MD)計算によって解析を行っていくこととした。今回の MD 計算は特に書かない限り MARTINI2 力場を用いた粗視化モデルにおけるものである。各種ラフト様マイクロドメインを形成するとされる脂質組成中における計算を行ったところ、EGFR の EJM-TM-IJM 配列は 1d 層に局在する傾向を見出した。一方、GM3 はこれまで知られる通り、1o 層に局在し、EGFR との相互作用は強いことが示された。したがって、GM3 存在下では EGFR は 1o 層付近に局在する。また、今回の計算ではラフト様マイクロドメインを形成するとされる脂質組成であっても、用いる脂質によってマイクロドメインの存在様式も異なることがわかった。詳細は解析中である。

1) Coskun *et al.* PNAS 2011;2) Tynan *et al.* Mol.Cell.Biol 2011