

令和 2 年 5 月 14 日
愛 媛 大 学

リン脂質の「トリマー」 PSD の立体構造を解明 ～生体膜が作られるしくみの一端が明らかに～

細菌からヒトに至るさまざまな生物において細胞は主にリン脂質から構成される生体膜で形成されています。生体膜を構成する主要リン脂質であるホスファチジルエタノールアミンはホスファチジルセリン脱炭酸酵素(PSD)によって合成されます。PSD はリン脂質の一種であるホスファチジルセリンの頭部にあるカルボキシ基を「トリミング」することでホスファチジルエタノールアミンを合成する酵素ですが、PSD が発見されて以来 45 年以上その詳細なメカニズムは多くが謎のままでした。

愛媛大学大学院農学研究科 渡邊康紀助教と渡辺誠也教授らの研究グループはホスファチジルエタノールアミンの生合成を担うホスファチジルセリン脱炭酸酵素 (PSD) の立体構造を解明することに成功しました。PSD にはプラスに荷電した「くぼみ」があり、そのくぼみの「ふち」の部分は疎水性であることがわかりました。さらに、その立体構造に基づいた変異体を用いた解析から、PSD は疎水性の「ふち」を介して生体膜に結合し、プラスに荷電した「くぼみ」にホスファチジルセリンを引き込むことで、ホスファチジルエタノールアミンの合成反応を起こすことを明らかにしました。

本研究は、細胞を形作る生体膜がどのように合成されるかという生命の根幹をなすメカニズムの一端を明らかにするもので歴史的にも重要な発見です。PSD の異常により生体膜の適切なリン脂質組成を保つことができず、さまざまな生物の生命活動において支障をきたすことが知られています。本研究成果が今後、新規の抗生物質の開発、生体膜中のリン脂質代謝異常により引き起こされる疾患の病因の理解や治療法開発に役立つことが期待されます。

本研究の成果は、2020 年 5 月 12 日付の米国国際学術誌「Structure」にオンライン掲載されました。

つきましては、是非、取材くださいますようお願いいたします。

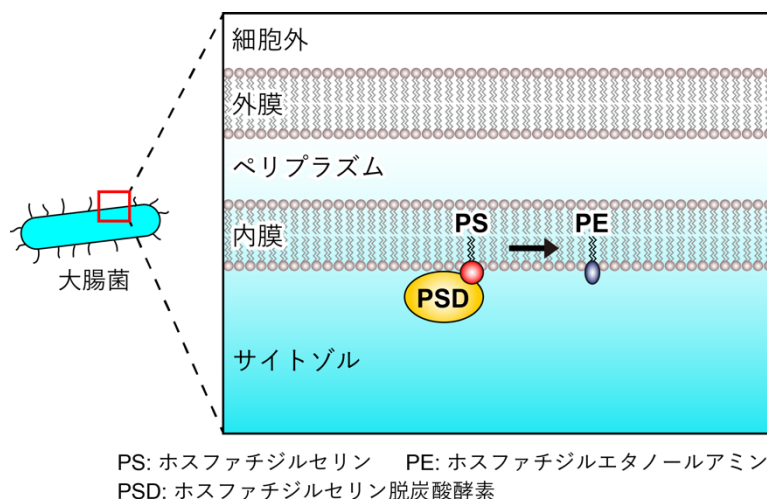
本件に関する問い合わせ先
愛媛大学大学院農学研究科
助教 渡邊康紀
E-mail: yasunori@agr.ehime-u.ac.jp

※送付資料 6 枚 (本紙を含む)

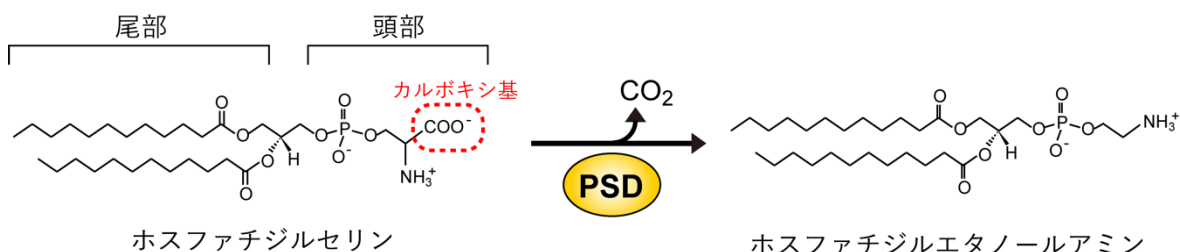
【背景】

私たち生き物の体を構成する細胞は脂質でできた膜で覆われています。また、酵母や人間などの真核生物の細胞内には、核、ミトコンドリア、小胞体などの生命活動には不可欠な働きをするオルガネラが発達しており、全て脂質でできた膜で覆われています。細胞やオルガネラがその機能を維持するには、多くのタンパク質が機能するための足場となる生体膜を構成する脂質の組成が適切に保たれていなければなりません。生体膜を主に構成するリン脂質の^(注1)一種であるホスファチジルエタノールアミンは、生体膜の形態の維持や、生体膜中のさまざまな酵素の活性に必要とされる大事な分子です。

ホスファチジルエタノールアミンはホスファチジルセリン脱炭酸酵素(PSD)によって合成されます(図1)。PSDはリン脂質の一種であるホスファチジルセリンの頭部にあるカルボキシ基を「トリミング」することでホスファチジルエタノールアミンを合成する酵素です(図2)。リン脂質であるホスファチジルセリンは生体膜中に埋まっているので、PSDがホスファチジルセリンを認識するためには生体膜に結合する必要があります。しかし、PSDがどうやって生体膜に結合し、生体膜中のホスファチジルセリンを識別してホスファチジルエタノールアミンを合成するのは、大きな謎でした。



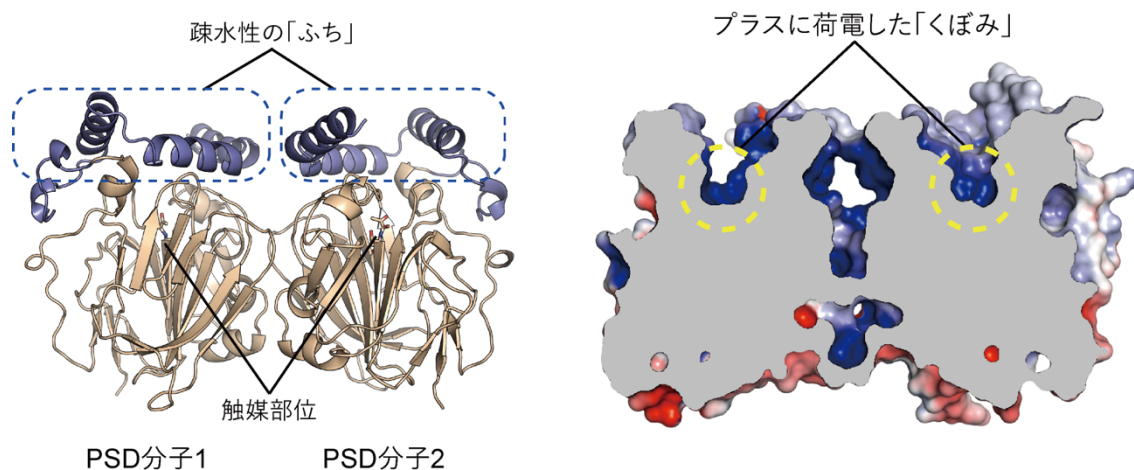
(図1) 大腸菌の PSD によるホスファチジルエタノールアミンの合成



(図2) ホスファチジルエタノールアミンの合成反応
PSDによってホスファチジルセリンの頭部にあるカルボキシ基が「トリミング」されることでホスファチジルエタノールアミンは合成される。トリミングされたカルボキシ基は二酸化炭素として遊離される。

【研究成果】

本研究グループは PSD の立体構造を決めることで、ホスファチジルエタノールアミンを合成するメカニズムを明らかにすることを試みました。大腸菌の PSD の結晶を作成し、X線結晶構造解析^(注2)により、PSD の立体構造を決定しました(図3)。その結果、PSD は二つの分子が結合した二量体を形作っており、PSD の触媒部位付近には「くぼみ」ができていました。そのくぼみはプラスに荷電しており、マイナスに荷電したホスファチジルセリンの頭部が結合するには有利な構造をしていました。また、PSD のくぼみの「ふち」の部分は水に溶けにくい疎水性の性質を有する構造をしていました。生体膜もほとんどの部分は水に溶けにくい疎水性であるので、PSD のふちの部分と生体膜は疎水的な性質同士で結合しやすいことが考えられます。そこで、PSD のふちの部分無くした変異体を作成し、人工膜小胞であるリポソーム^(注3)を用いて膜への結合を調べました。その結果、ふちを無くした変異体は膜に結合しなくなったことから、実際に PSD はふちの部分を通じて生体膜に結合することが明らかになりました。



(図3) PSD の立体構造

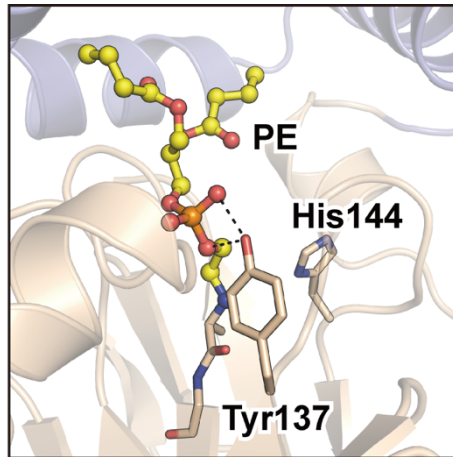
(左) PSD の立体構造をリボンモデル表示した図。疎水性の「ふち」の部分青色で示している

(右) PSD の立体構造を分子表面表示した図。プラスの電荷を青、マイナスの電荷を赤で示す。

触媒部位が存在する部分はプラスに荷電した「くぼみ」ができていることが分かる。

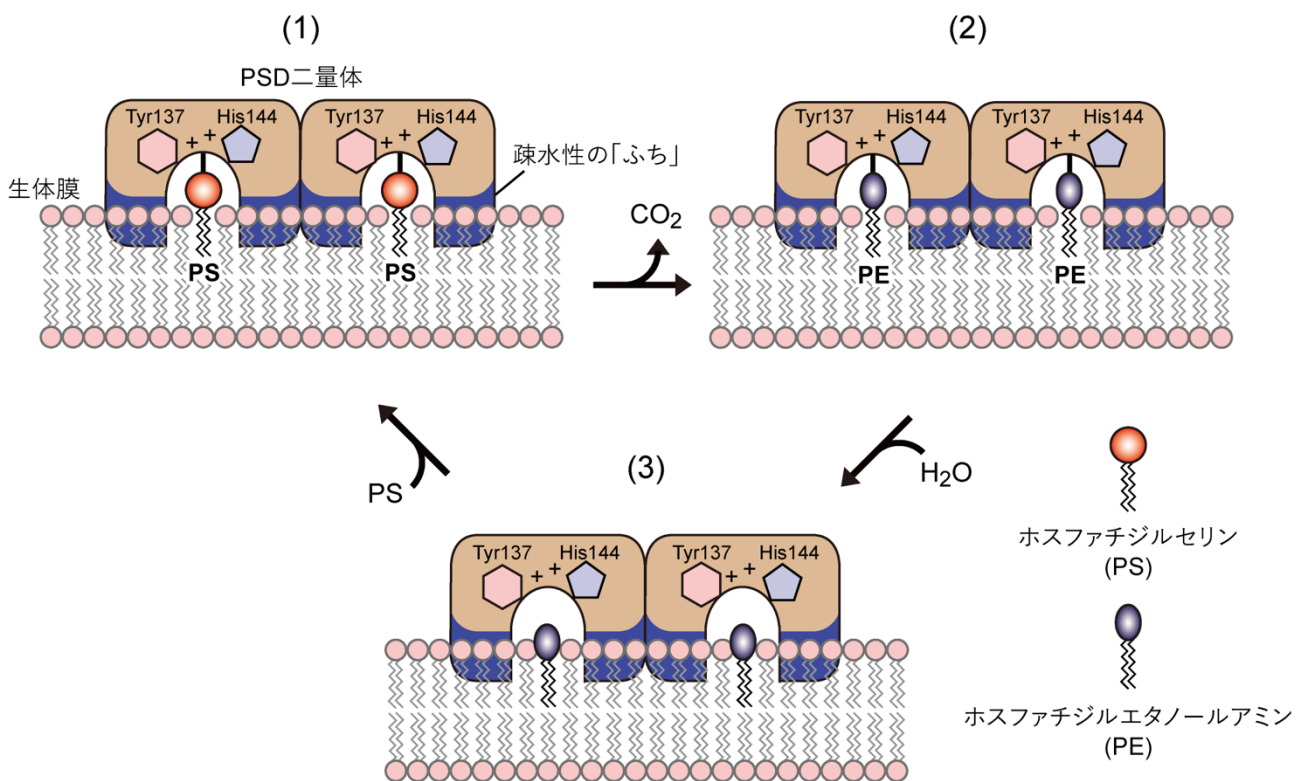
さらに、研究グループは PSD のホスファチジルエタノールアミン合成反応途中の状態の結晶を作成することに成功し、その立体構造を決定しました(図4)。ホスファチジルセリンのカルボキシ基はすでにトリミングされ、ホスファチジルエタノールアミンに変換されていましたが、予想通り、マイナスに荷電したホスファチジルセリンの頭部はプラスに荷電したくぼみに引き合う形で入り込んで結合することが明らかになりました。また、変異体を用いた解析から PSD のくぼみを形作りホスファチジルセリンの認識を担っていたアミノ酸残基である 137 番目のチロシン残基と 144 番目のヒスチジン残基が、実際にホスファチジルエタノールアミン合成に重要であることが明らかになりました。

以上の結果から、まず PSD は疎水性の「ふち」の部分を通じて生体膜に結合し、ホスファチジルセリンのマイナスに荷電した頭部を、プラスに荷電した「くぼみ」に引き込みます。続いてくぼみに存在しているアミノ酸残基の働きによってカルボキシ基が「トリミング」されることでホスファチジルエタノールアミンが合成されることが PSD の立体構造から初めて明らかになりました(図5)。



PE: ホスファチジルエタノールアミン
 Tyr137: 137番目のチロシン残基
 His144: 144番目のヒスチジン残基

(図4) PSD のホスファチジルエタノールアミン合成反応途中の立体構造の拡大図
 ホスファチジルエタノールアミンは球と棒で示している。137番目のチロシン残基と144番目のヒスチジン残基は、結合したホスファチジルエタノールアミンの近くに位置している。



(図5) PSD によるホスファチジルエタノールアミン合成のモデル

- (1) PSD の疎水性の「ふち」を介して生体膜に結合し、プラスに荷電した「くぼみ」にマイナスに荷電したホスファチジルセリンの頭部を引き込む。
- (2) 「くぼみ」に存在する 137 番目のチロシン残基と 144 番目のヒスチジン残基の働きによってカルボキシ基が「トリミング」される。
- (3) 加水分解によって、ホスファチジルエタノールアミンと PSD との結合が解離され、合成反応は終了する。新たなホスファチジルセリンが結合し、次の合成反応が開始される。

【今後の展望】

本研究で解析した大腸菌の PSD はヒトに至るさまざまな生物種間で保存されており、それらは共通して生体膜の主要リン脂質であるホスファチジルエタノールアミンの合成に関わっています。そのため、PSD の異常によりホスファチジルエタノールアミンが合成できなくなることで、生体膜の適切なリン脂質組成を保つことができず、さまざまな生物の生命活動において支障をきたします。例えば、PSD を欠損した大腸菌は正常に増殖することができなくなります。また最近、ヒトの PSD の異常により骨格形成不全や白内障などの疾病が引き起こされることが示されています。本研究では、細菌からヒトまで共通したホスファチジルエタノールアミンの合成メカニズムの詳細を PSD の立体構造から解明することに成功しました。今後、本研究で明らかになった PSD の立体構造を足がかりに、病原性細菌に対する新規抗菌薬の開発や、PSD の異常が引き起こすヒトの疾患の病態解明および治療法の開発などにつながることを期待されます。

本研究は、日本学術振興会（JSPS）の科学研究費助成事業、上原記念生命科学財団、日揮・実吉奨学会の支援を受けました。

【論文情報】

掲載誌 : Structure

題名 : Structural basis for phosphatidylethanolamine biosynthesis by bacterial phosphatidylserine decarboxylase.

(和訳) 細菌のホスファチジルセリン脱炭酸酵素によるホスファチジルエタノールアミン生合成の構造的基盤

著者 : Yasunori Watanabe, Yasuo Watanabe, Seiya Watanabe

DOI : 10.1016/j.str.2020.04.006

【本件に関する問い合わせ先】

愛媛大学大学院農学研究科

助教 渡邊康紀

E-mail: yasunori@agr.ehime-u.ac.jp

【用語解説】

（注1）リン脂質

生体膜の主要な構成成分である脂質分子。グリセロールを中心骨格として親水性のリン酸を含む頭部と、疎水性の脂肪酸から成る尾部が結合した分子である。疎水性の尾部同士が内側に、親水性の頭部が外側に位置し、二層になることで脂質二重層と呼ばれる膜を形成する。

（注2）X線結晶構造解析

目的のタンパク質の結晶にX線を照射し、反射したX線像がつくる膨大な反射データを収集し、解析することでタンパク質の立体構造を明らかにする手法。X線を用いた実験は、兵庫県佐用町に位置する世界最大級の大型放射光施設であるSPring-8にて行った。

（注3）リポソーム

リン脂質を用いて人工的に作成した脂質二重層から成る小胞。細胞やオルガネラの生体膜のモデル系として利用される。本研究では、PSDと生体膜との結合を調べるために利用した。