

立体構造から見たスシドメイン

後藤 祐児*, 萩原 義久*

Three Dimensional Structure of Sushi Domains

Yuji GOTO*, Yoshihisa HAGIHARA*

Key words : sushi domain, short consensus repeat, complement control protein repeat, β 2-glycoprotein I, NMR

1. はじめに

アミノ酸の連なったポリペプチド鎖である蛋白質は、コンパクトに折れたたまれることによって特異的な立体構造を形成する。蛋白質が折れたたまれることをフォールディングという。蛋白質の機能は、フォールディングした蛋白質によって果される。ところが、蛋白質が大きくなるにつれて、それがひとつの球状構造にフォールディングすることは困難になる。大きな蛋白質では、しばしば、ドメインと呼ばれる比較的小さなフォールディング単位を形成することにより、この問題を克服している。また免疫グロブリンに代表されるように、ドメインは機能単位となることが多い。ドメインの中で、構造的に独立した単位であり、さまざまな蛋白質で頻りに現れるものを、モジュールという。スシドメインもその典型的なもののひとつである。

2. スシドメイン, CCP, SCR

スシドメインという用語は、ジスルフィド結合の様式に由来する¹⁾。約 60 残基からなるポリペプチド鎖が、2本のジスルフィド結合によっ

て、にぎり寿司を連想させる特徴的なパターンに架橋されている。ジスルフィド結合の組み合わせは、1-3, 2-4 である。補体蛋白質に頻りに見られることから、Complement Control Protein (CCP), あるいは Short Consensus Repeat (SCR)モジュールとも呼ばれる。

スシドメインは、はじめ補体蛋白質ファクター B で報告され、その後、さまざまな蛋白質で見つかった(図 1)。立体構造が最初に報告された 1991 年の論文²⁾では「20 種類のヒトの蛋白質で、140 個以上が見られる」と述べられている。現時点は、「ヒトでは 69 種類の蛋白質で、366 個」, 「真核生物全体では、263 種類の蛋白質で 1160 個」が報告されている (<http://coot.embl-heidelberg.de/smart/>)。

補体系の蛋白質では、C2, ファクター B, C1r, C1s などに含まれるが、特にファクター H は、スシドメインを 20 個も含む。その他、血液凝固ファクター XIIIb, インターロイキン 2 リセプター, ハプトグロブリン, β 2-グリコプロテイン I (β 2 GPI) などさまざまな蛋白質で見られる。

このように多くのスシドメインが見られるのは、スシドメインが遺伝的なエクソン単位として、進化の過程で重複したためであろう。スシドメインは、構造単位として、個々の蛋白質に

*大阪大学蛋白質研究所 (〒565-0871 吹田市山田丘 3-2)

Institute for Protein Research, Osaka University [3-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan.]

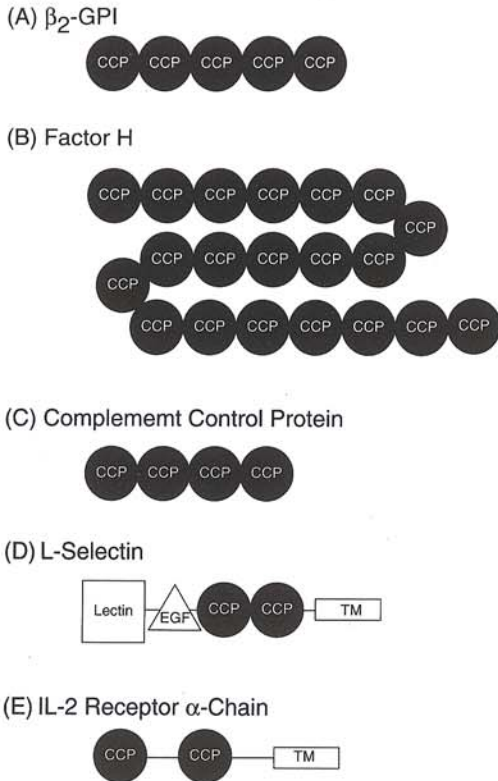


図1 スシドメインを含む蛋白質の模式図
(A) β 2-glycoprotein I, (B) Factor H,
(C) Complement Control Protein, (D)
L-Selectin, (E) IL-2 Receptor α -
Chain. CCP と付けた黒丸が、スシドメイ
ンを示す。TM は、膜挿入部分を示す。

特徴的な特性を与える。更には、特徴的な配列や立体構造を介して、生物機能を担っている。機能の分子機構を理解するには、スシドメインや、それが連なった蛋白質の立体構造を知ることが重要となる。

3. スシドメインの立体構造

現在、Protein Data Bank には、4つのスシドメインの座標が登録されている。最初に報告されたのはファクターHの16番目のドメイン(PDB ID = 1hcc, 以下同様)である。Campbellらのグループによって、酵母に発現させた蛋白質の立体構造が、H-NMRを用いて決められ

た²⁾。その後、ファクターHの第5ドメイン(座標なし)、第15ドメイン(1hfi)、さらに第15ドメインと第16ドメインのつながったもの(1hfh)について、NMR構造が報告された。また、vaccinia virus 補体系蛋白質に含まれるスシドメイン2つのつながったものでも、NMR構造(1vvc)が決められている。意外なことに、X線結晶解析構造は、1例も報告されていない。

スシドメインは全体として、 β サンドイッチと呼ばれる円筒型の立体構造をとる(図2)。ポリペプチド鎖は、円筒の周囲を5回上下し、N末端(下)とC末端(上)は、分子の反対方向に向いている。2本のジスルフィド結合は、分子の上下に位置し、N末端とC末端をドメインにつなぎとめている。3本あるいは4本の β ストランドからなる β シートが、円筒の片側から、ドメイン全体を包み込んでいる。これらのストランドで囲まれた蛋白質内部には、疎水性側鎖が密に詰まって、疎水性コアを形成している(図2D)。このような基本的なフォールディングパターンは、スシドメインに共通していると考えられる。

2つのスシドメインのつながったものの立体構造を見ると、ドメインが結合することにより、両末端がさらに遠ざかっている様子がわかる(図2E)。スシドメインが連なることにより、串団子のように構造単位を積み重ね、延ばしていくことが可能となる。

4. ほかのモジュールとの比較

蛋白質モジュールには、スシドメイン以外にもいくつかの代表的なものがある³⁴⁾。図3は、免疫グロブリン、フィブロネクチンタイプ1、EGF、クリングルのドメインを比較したものである。これらの内、スシドメインと免疫グロブリンのドメイン(約100残基)は、N末端とC末端が反対側を向いている点、比較的大きなドメインである点で共通している。免疫グロブリンの場合も、ドメインが連なると、ドメインは

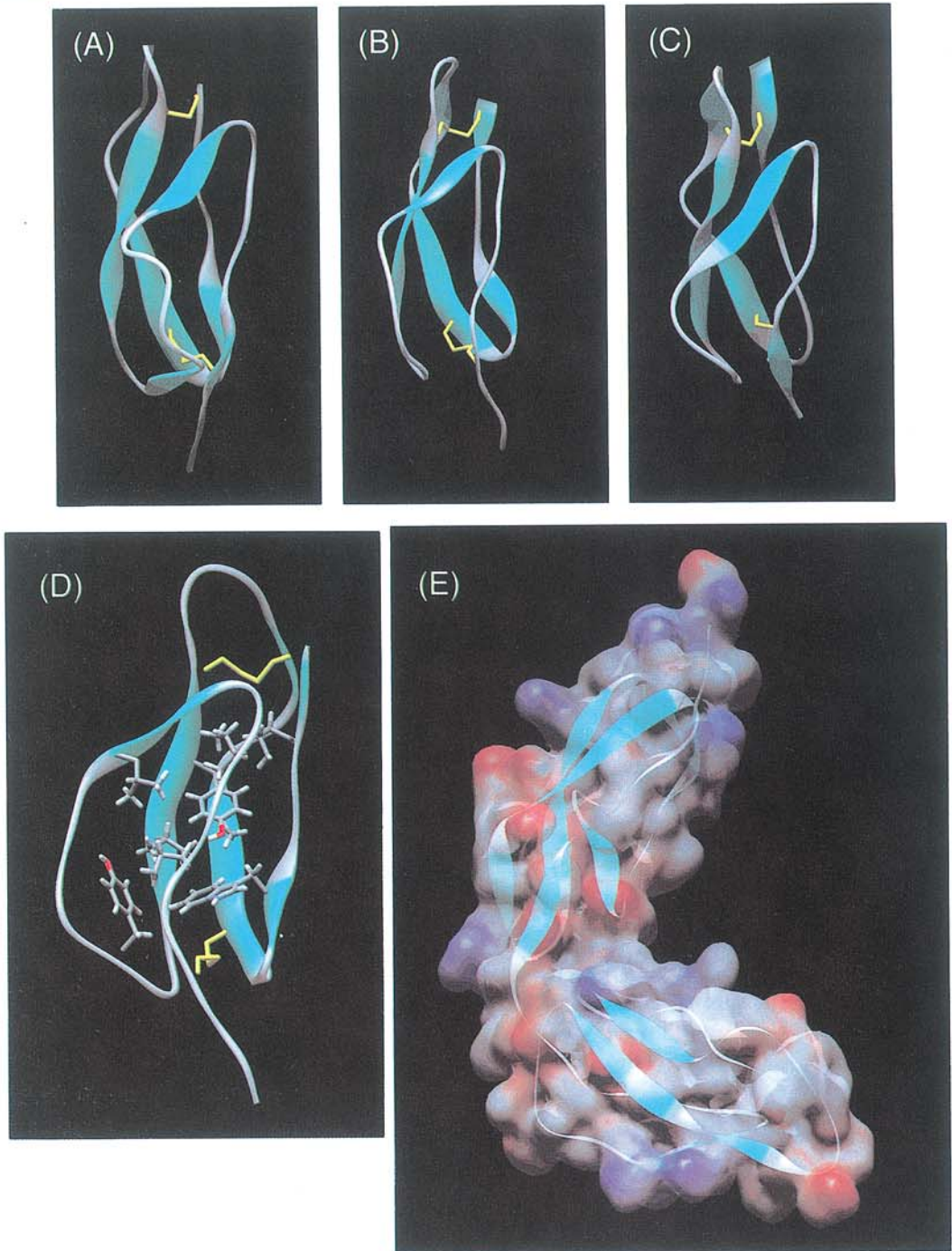


図 2 スシドメインの立体構造

(A) 15th domain of factor H; (B) 16th domain of factor H; (C) 3rd domain of vaccinia virus complement control protein. (D) 15th domain of factor H. (E) 15th and 16th domains of factor H. 黄色の棒はジスルフィド結合を表す。D では分子内部に疎水性残基の詰まったコアができている様子を示す。E では、分子表面を示す (青は塩基性残基, 赤は酸性残基)。

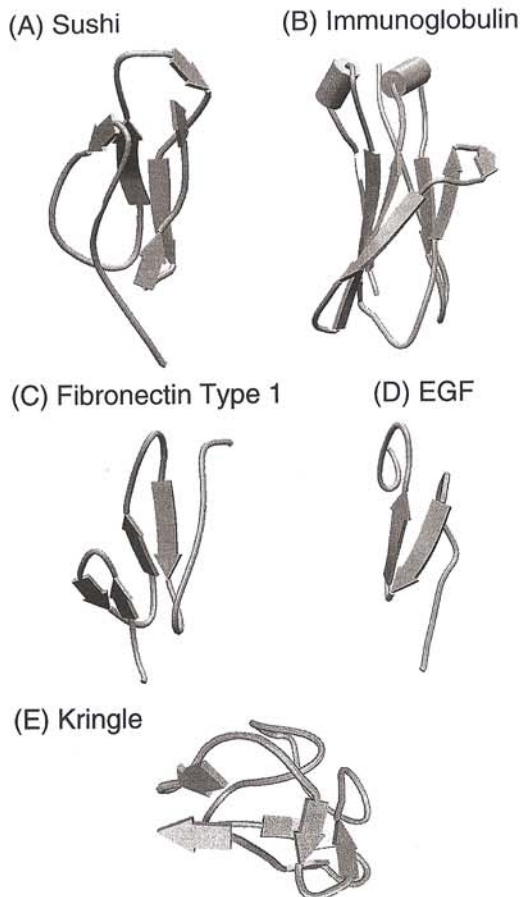


図3 代表的なモジュールの立体構造の比較
 (A) スシ, 16th domain of factor H (PDB ID = 1hcc). (B) 免疫グロブリン, Fc fragment (PDB ID = 1fc2) より.
 (C) フィブロネクチンタイプ1, Tissue-type plasminogen activator (PDB ID = 1tpm) より. (D) EGF, Factor IX (PDB ID = 1edm) より. (E) クリングル, Plasminogen (PDB ID = 1krn) より

串団子のように伸びる。フィブロネクチンドメインとEGFドメインも、N末端とC末端が反対向きという点ではスシドメインに似ているが、30~40残基とドメインのサイズは小さい。また、両末端はドメインの中心から外れている。クリングルドメインでは、N末端とC末端は接近しており、いくつかのドメインがつながると、全体として集合した立体構造になることが予想される。

5. β 2GPIの立体構造と機能

スシドメインをもつ蛋白質の中でも、特に注目されているのが、血中に大量(0.2 mg/ml)に含まれる β 2GPIである⁵⁶⁾。近年、抗リン脂質症候群で見られる自己抗体は、リン脂質を抗原として認識するのではなく、リン脂質に結合した β 2GPIを抗原として結合することが明らかとなった。抗リン脂質症候群は、全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患のひとつであり、脳梗塞、心筋梗塞、肺血栓性梗塞症、習慣性流産などの原因とされている。 β 2GPIの構造と機能を理解することは、これらの疾病の予防や治療にとって必須である。

β 2GPIは5つのスシドメインから構成され、第2, 3, 4ドメインには糖が付加している。第1から第4ドメインは典型的なスシドメイン配列をもつが、第5ドメインはC末端が他のドメインに比べて20残基長く、82残基からなる(図4)。全体の分子量は、約5万である。第1から第4のドメインが、図2に示されるようなスシドメインに特徴的な立体構造をとっていることは、間違いのないであろう。また、第5ドメインについては、C末端側の約20残基を除く部分は、スシドメイン構造をとっていることが推定されているが、詳細は不明である。

β 2GPIの特徴は、カルジオリピンをはじめとする酸性リン脂質に強く結合することである⁷⁾。 β 2GPIは、リシン、アルギニン、ヒスチジンなどの塩基性残基を多く含む塩基性蛋白質であるが、特に第5ドメインには、塩基性残基が多く含まれ、酸性リン脂質との強い結合を担っている。しかし、第5ドメインに存在するリシン317-スレオニン318結合(図3、矢印)が、プラスミンで特異的に切断されると、リン脂質結合能は著しく低下する⁸⁾。このことから、リン脂質との相互作用には、特異的な立体構造が重要であると考えられる。

抗リン脂質症候群の患者では、 β 2GPIがリ

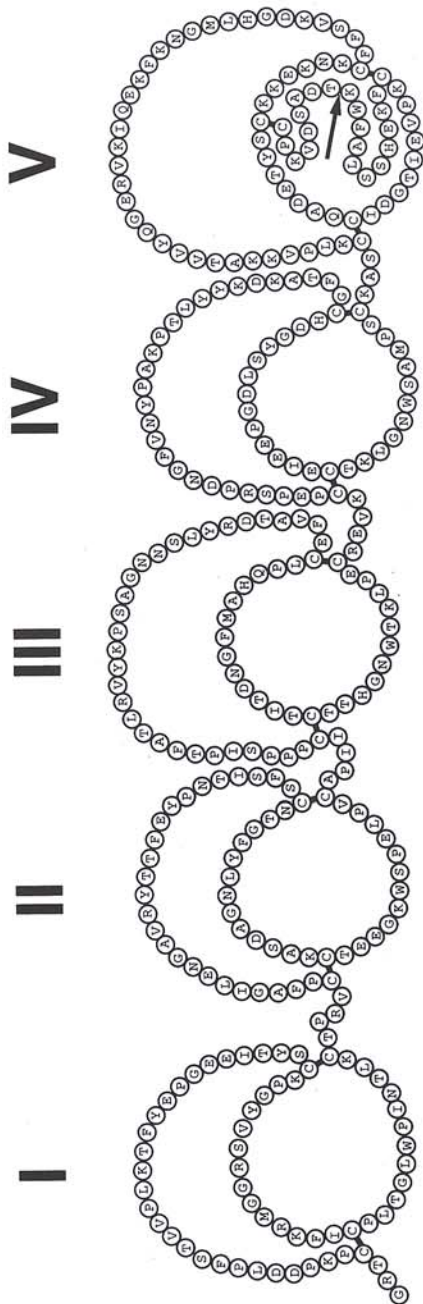


図4 ヒト $\beta 2$ グリコプロテインIの模式図
第5ドメインの矢印は、プラスミンによる特異的な切断部位を示す。

は、 $\beta 2$ GPIのエピトープが、リン脂質との相互作用によって新たに露出する機構である⁹⁾。小池ら⁹⁾は、 $\beta 2$ GPIの5つのドメインは、溶液中で互いに集合し、第IVドメイン状のエピトープが隠されるような4次構造を形成していることを提案した。別なモデルでは、 $\beta 2$ GPIが膜に結合したとき、 $\beta 2$ GPIの分子間会合が進み、抗原の有効濃度が高まることにより抗体との反応がおきる⁹⁾。いずれにしても5つのドメインが、溶液中で、あるいはリン脂質膜に結合したとき、どのような配置(4次構造)をとるか、を理解することが必要である。

6. おわりに

スシドメインは、約60残基からなる球状蛋白質であり、NMRやX線を用いた構造解析のよい材料となると考えられるが、これまでに解析のなされた例は意外に少ない。さらに多くの立体構造解析を行うことが必要である。特に $\beta 2$ GPIの第5ドメインは、他に比べて伸長したC末端部分をもつので、その部分がどのような立体構造をとっているかを明らかにすることは、興味深い。また、 $\beta 2$ GPIなどでは、複数のドメインが寄り添ったときの立体構造が、今後の重要な課題となるであろう。

追記：本記事を投稿した後で、 $\beta 2$ GPIのX線結晶構造 (PDB ID=1qub) が発表された [Adhesion mechanism of human $\beta 2$ -glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. Bouma, B. et al. (1999) EMBO J. 18 (19) 5166-5174]. $\beta 2$ GPIの5つのドメインは、全体として伸長した立体構造を形成していることが明らかとなった。

文 献

- 1) Ichinose A, Bottenus RE, Davie EW: Structure of transglutaminases. J Biol Chem 265:13411-13414, 1990.

ン脂質膜に結合すると、何らかの構造変化が生じて、自己抗体との反応が起きる。この機構として、2つのモデルが提案されている。ひとつ

- 2) Norman DG, Barlow PN, Baron M, Day AJ, Sim RB, Campbell ID: Three-dimensional structure of a complement control protein module in solution. *J Mol Biol* **219**: 717-725, 1991.
- 3) Baron M, Norman DG, Campbell ID: Protein modules. *Trends Biochem Sci* **16**: 13-17, 1991.
- 4) 神田大輔: 立体構造で見る凝固線溶蛋白質の作用機構—EGFドメイン—*血栓止血誌* **10**: 189-194, 1999.
- 5) Sheng Y, Kandiah DA, Krilis SA: β 2-glycoprotein I: Target antigen for 'antiphospholipid' antibodies. Immunological and molecular aspect. *Lupus* **7**: Suppl2, S5-S9, 1998.
- 6) Arnout J, Vermeylen J: Mechanism of action of β 2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulants. *Lupus* **7**: Suppl2, S23-S28, 1998.
- 7) Hagihara Y, Enjyoji K, Omasa T, Katakura Y, Suga K, Igarashi M, Matsuura E, Kato H, Yoshimura T, Goto Y: Structure and function of the recombinant fifth domain of human β 2-glycoprotein I: Effects of specific cleavage between Lys77 and Thr78. *J Biochem* **121**: 128-137, 1998.
- 8) Ohkura N, Hagihara Y, Yoshimura T, Goto Y, Kato H: Plasmin can reduce the function of human β 2 glycoprotein I by cleaving domain V into a nicked form. *Blood* **91**: 4173-4179, 1998.
- 9) Koike T, Ichikawa K, Kasahara H, Atsumi T, Tsutsumi A, Matsuura E: Epitopes on β 2-GPI recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus* **7**: Suppl2, S14-S17, 1998.