

## グアニンヌクレオチド交換因子 SmgGDS による脂質修飾された低分子量Gタンパク質の認識および新規 GEF 機構を解明

### 1. 発表者：

清水光（研究当時：東京大学大学院薬学系研究科 博士課程 3 年生）

藤間祥子（東京大学大学院薬学系研究科 助教）

堅田利明（武蔵野大学薬学部 教授）

紺谷圏二（明治薬科大学薬学部 教授）

清水敏之（東京大学大学院薬学系研究科 教授）

### 2. 発表のポイント：

◆ファルネシル化 RhoA と SmgGDS-558 という 2 つのタンパク質の複合体結晶構造を決定しました。

◆RhoA に対する SmgGDS のグアニンヌクレオチド交換促進機構および翻訳後脂質修飾の認識機構を明らかにしました。

◆本研究成果は、低分子量 G タンパク質や SmgGDS を標的とした抗癌剤の開発に繋がることが期待されます。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院薬学系研究科の清水光 大学院生、藤間祥子 助教、清水敏之教授、堅田利明（武蔵野大学薬学部 教授）、紺谷圏二（明治薬科大学薬学部 教授）らの研究グループは、低分子量 G タンパク質 RhoA のグアニンヌクレオチド交換因子である SmgGDS-558 による脂質修飾された RhoA の認識機構を、世界で初めて明らかにしました。

低分子量 G タンパク質は GDP 結合型/GTP 結合型を行き来することで分子スイッチとして働き、細胞増殖や骨格形成といった重要な細胞機能を制御するタンパク質です。グアニンヌクレオチド交換因子 (Guanine-nucleotide exchange factor: GEF)は GDP/GTP の交換を促進することでこの低分子量 G タンパク質の活性を管理しています。SmgGDS-558 は RhoA に対する GEF であり、既知の GEF にみられる活性ドメインを持っていないことや低分子量 G タンパク質の翻訳後脂質修飾を認識することなど特異な性質を持つことが知られています。しかし、どのようにして SmgGDS-558 が RhoA に対して GEF として働くのか、脂質修飾を認識するのかは明らかになっていませんでした。

本研究グループは、X 線結晶構造解析により SmgGDS-558 による RhoA の認識機構を明らかにしました。SmgGDS-558 は RhoA と 1 : 1 複合体を形成し、RhoA のグアニンヌクレオチド認識部位を大きく構造変化させることで RhoA からの GDP の解離を促進していました。また SmgGDS-558 は RhoA との結合時に自身の構造を変化させることで隠されたポケットをあらわにし RhoA の脂質修飾部位を認識していました。本知見は、構造解析によってはじめて得られたものであり、今後低分子量 G タンパク質や SmgGDS を標的とした治療薬の開発に寄与すると考えられます。本研究成果は 2018 年 9 月 6 日付で *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* (オンライン版)に掲載されました。

#### 4. 発表内容：

##### <研究の背景>

低分子量 G タンパク質は細胞内シグナル伝達のスイッチとして働くタンパク質群であり、GTP 結合型と GDP 結合型を行き来することで細胞増殖や骨格形成といった重要な機能を制御しています。低分子量 G タンパク質の GDP/GTP 交換はグアニンヌクレオチド交換因子 (guanine-nucleotide exchange factor: GEF) によって制御されており、これらの機能異常は癌などの重大な疾患に繋がります。SmgGDS は低分子量 G タンパク質 RhoA に対する GEF の一つであり、GEF の中では唯一アルマジロリピートモチーフ (Armadillo-repeat motif: ARM, 注 1) と呼ばれる構造単位のみで構成されていることで知られています。既知の GEF にみられる活性ドメインを一切持たず、どのような仕組みで GEF として機能するのかについては長きにわたり不明でした。また、SmgGDS は ARM 数の異なる 2 つのスプライスバリエント (注 2) アイソフォーム (SmgGDS-558, SmgGDS-607) から成っています (図 1)。近年になり SmgGDS-558 は翻訳後脂質修飾を受けた RhoA を SmgGDS-607 は未修飾の RhoA を強く認識し GEF 活性を発揮するということが見出されてきました。しかし、これら脂質修飾の認識に関しても SmgGDS の構造解析が進んでいないため、その詳細な分子機構については不明なままでした。

##### <研究の内容>

本研究グループは、大型放射光施設 SPring-8 および高エネルギー加速器研究機構 Photon Factory の強力な X 線を用いて、SmgGDS-558 と脂質修飾した RhoA の複合体の X 線結晶構造解析に成功しました。構造解析の結果、SmgGDS-558 は RhoA と 1 : 1 の複合体を形成していました。SmgGDS-558 による RhoA 認識部位は主に二か所あり、一つは RhoA の Switch II と呼ばれるグアニンヌクレオチドの結合に重要なモチーフで、もう一つは RhoA の脂質修飾部位でした (図 2)。SmgGDS-558 は RhoA の Switch II 大きな構造変化を誘起し、グアニンヌクレオチド結合部位を不安定化することで GDP/GTP の交換を促進していることが明らかになりました。また、RhoA の脂質修飾部分は SmgGDS-558 の疎水性ポケットに収容されており、これは構造上 SmgGDS-607 には存在しない ARM B と D の境界部分でした。SmgGDS-558 と SmgGDS-607 が ARM 1 つの違いによって RhoA の脂質修飾有無を区別し GEF 活性を発揮するということが分子構造上初めて明らかとなりました。

##### <今後の展開>

低分子量 G タンパク質は多くの癌において創薬上重要なターゲットの一つとされています。本研究により低分子量 G タンパク質や SmgGDS を標的とした治療薬の開発に寄与すると考えられます。

本研究は、科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (CREST)、科学研究費補助金、公益財団法人 武田科学振興財団助成金、公益財団法人 上原記念生命科学財団、公益財団法人 内藤記念科学振興財団などの外部資金支援を受けて行われたものです。

#### 5. 発表雑誌：

雑誌名：Proceedings of the National Academy of Sciences, USA

論文タイトル：GEF mechanism revealed by the structure of SmgGDS-558 and farnesylated RhoA complex and its implication for chaperone mechanism

著者：清水光\*、藤間祥子、堅田利明、紺谷圈二、清水敏之† (\*筆頭著者、† 責任著者)

DOI 番号：10.1073/pnas.1804740115

## 6. 問い合わせ先：

<研究に関すること>

東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻

助教 藤間祥子（とうま さちこ）

Tel：03-5841-4842 Fax：03-5841-4891

E-mail：tomas@mol.f.u-tokyo.ac.jp

教授 清水 敏之（しみず としゆき）

Tel：03-5841-4840 Fax：03-5841-4891

E-mail：shimizu@mol.f.u-tokyo.ac.jp

HP：http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~kouzou/index.html

## 7. 用語解説：

注1) アルマジロリピートモチーフ

タンパク質にみられる構造単位. 3つの $\alpha$ ヘリックスからなる繰り返し構造であり, 蛋白質間の相互作用に重要であると考えられている.

注2) スプライスバリエント

真核細胞において RNA 前駆体からイントロンを除去しエキソン同士を繋げる反応がスプライシングであるが, このスプライシングには多様性があり, 同一の遺伝子から構造の異なる複数のタンパク質が生産されることがある.

## 8. 添付資料：

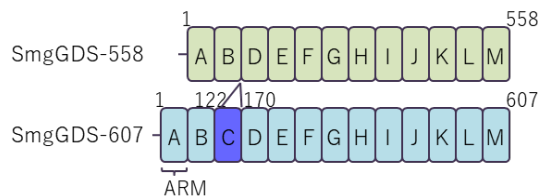


図 1. SmgGDS のドメイン図

図中 A-M までのアルファベットはそれぞれ一つの ARM を表す. 数字はアミノ酸番号.

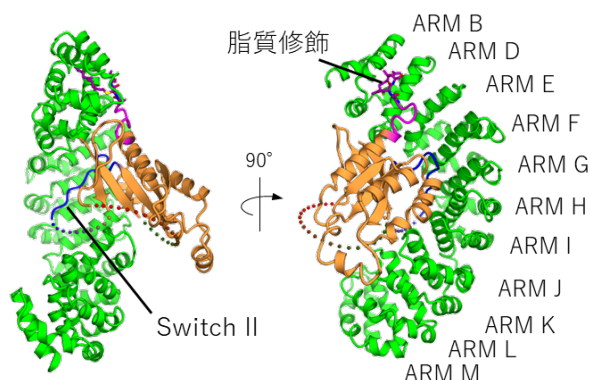


図 2. SmgGDS-558 (緑) /ファルネシル化 RhoA (橙) 複合体全体構造

RhoA の Switch II は青色で, 脂質修飾部位周辺は紫色で表示した. 点線は結晶中では揺らいでおり, 観測されなかった部分.