

膜タンパク質が「はさみ分子」によって切断される部位を大規模に解明

—細胞間コミュニケーションの制御機構解明に向けて—

概要

細胞膜に結合しているタンパク質 (= 膜タンパク質) は、タンパク質の”はさみ”であるプロテアーゼによって切断されて遊離することで、離れた細胞とのコミュニケーションを行います。この現象はエクストドメインシェディング (シェディング) と呼ばれ、様々な生命現象に関連します。これまでに、様々な膜タンパク質がシェディングを受けることが知られていました。切断される部位によって膜タンパク質は異なる機能を獲得し得るため、その位置的情報は重要です。しかし、ほとんどのシェディング基質について、詳細な切断部位の情報が不明でした。

このような問題を解決するために、京都大学大学院薬学研究科の石濱泰 教授、津曲和哉 同博士課程学生 (研究当時、現：慶應義塾大学医学部特任助教) らのグループは、異なる組織に由来する 10 種のヒト由来細胞株について、シェディングによって遊離したタンパク質を液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) によって解析し、大規模にその切断部位を同定しました。本研究で得られた切断部位情報は、今まで報告されていた情報を遥かに上回る過去最大のものであり、細胞間シグナル伝達の解明やシェディングを標的とした創薬開発に有用なデータソースとなることが期待されます。

本研究成果は、2021 年 3 月 2 日に国際科学誌「iScience」にオンライン掲載されました。

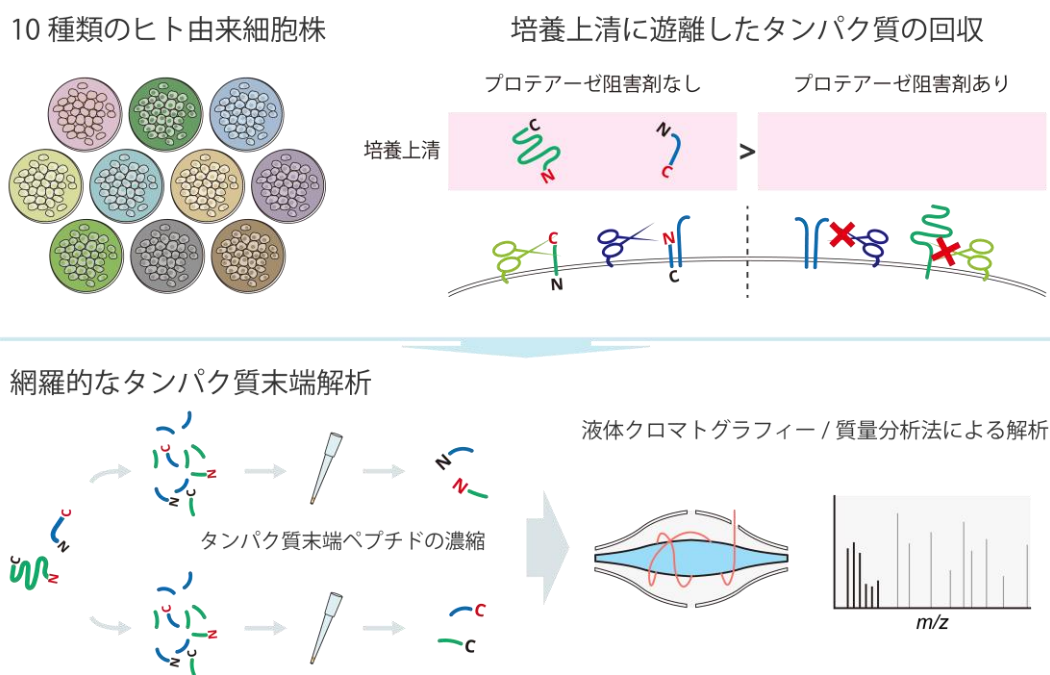


図. 本研究の概要

1. 背景

膜タンパク質は細胞膜表面に存在するため、他の細胞へシグナルを伝達する、あるいは他の細胞からのシグナルを受け取るために重要です。多くの膜タンパク質は”はさみ分子”であるプロテアーゼによって切断され、その細胞外ドメインを細胞膜から遊離します。この現象は、エクストドメインシェディング（シェディング）と呼ばれ、膜タンパク質が遠く離れた細胞の受容体に結合・作用することを可能にします。切断される部位によって膜タンパク質は異なる機能を獲得し得るため、その位置情報はシェディングを受けたタンパク質（シェディング基質）の生理機能の理解に必須です。しかし、多くのシェディング基質について、切断部位の情報は不明でした。この理由として、従来の切断部位同定のための解析手法では大量の試料が必要である等の問題点があり、本研究では当グループが開発した高感度なタンパク質末端解析法をシェディング基質に応用することで、その切断部位の大規模解明を目指しました。

2. 研究手法・成果

異なる組織に由来する 10 種のヒト由来細胞株から培養上清に遊離したタンパク質回収し、酵素によるペプチド断片化の後に、タンパク質末端に由来する”末端ペプチド”を液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) によって同定しました。当グループが開発した末端ペプチド濃縮法を用いた高感度なタンパク質末端解析法と、プロテアーゼ阻害剤処理と安定同位体標識を組み合わせた定量解析を利用することで、大規模かつ信頼性の高いシェディング基質切断部位の同定を行いました。

その結果、細胞内因性プロテアーゼによるシェディング基質切断部位の報告として過去最大である、163 タンパク質上の計 489 の切断部位の同定に成功しました。細胞種ごとに同定されたシェディング基質は大きく異なっており、それぞれの細胞種の生理機能に応じたタンパク質がシェディングを受けていることが示唆されました。また、同定された切断部位の周辺配列について、既知情報を基にしたスコアリングを行うことで、各部位を切断するプロテアーゼの予測を行うことが出来ました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究で得られたシェディング基質の大規模な切断部位情報は、膜タンパク質の生理機能・制御機構の理解、細胞間シグナルネットワークの全貌を解明する上で有用なデータソースになると考えられます。シェディングの異常は、がんやアルツハイマー病をはじめとした多くの疾患と深く関連していることから、詳細な細胞間シグナルネットワークの理解や観測は、疾病診断や治療、あらたな創薬ターゲットの発見に繋がることが期待できます。

本研究で確立したワークフローは、シェディング基質に限らず、広くタンパク質末端解析に応用出来るため、タンパク質切断に関連する様々な生命現象に応用したいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

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) (課題番号: 18070870)、日本学術振興会科学研究費補助金 (課題番号: 17J04628 (津曲和哉), 17H05667 (石濱泰)) の助成を受けて行われました。

<研究者のコメント>

当研究室では、リン酸化による細胞”内”シグナルネットワークの解析を精力的に行ってきました。本研究で得られた細胞”間”シグナルネットワークに関する知見と合わせることで、相乗的な発見に繋がると良いです。

<論文タイトルと著者>

タイトル： Exploring the Landscape of Ectodomain Shedding by Quantitative Protein Terminomics. (定量的末端プロテオミクスによるエクトドメインシェディング大規模解析)

著者：津曲和哉、張 智翔、石濱 泰

Kazuya Tsumagari, Chih-Hsiang Chang, Yasushi Ishihama

掲載誌：iScience DOI：10.1016/j.isci.2021.102259

<図>

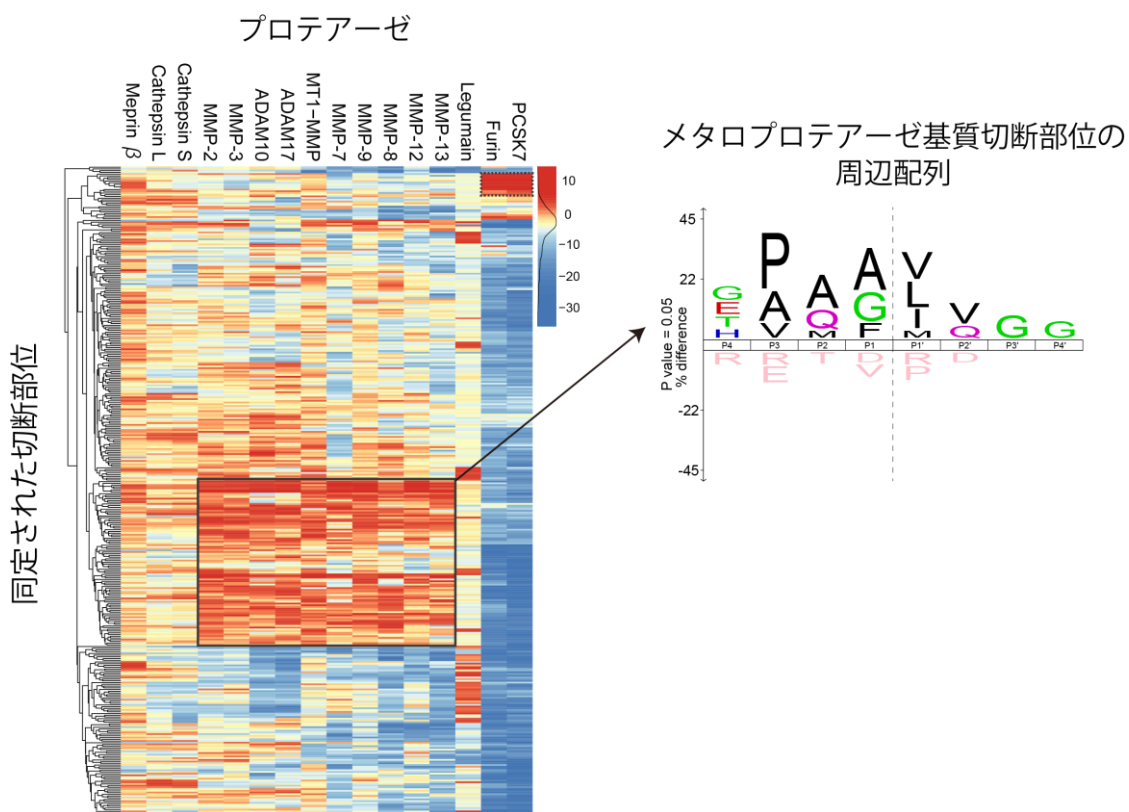


図. 結果の概要

(左) 縦に同定された膜タンパク質の切断部位、横にシェディングを担い得るプロテアーゼが並ぶ。既知情報を基に、同定された切断部位が16のプロテアーゼについてそれぞれどのくらい基質になり得るかをスコア化し、クラスター解析を行った。多くの膜タンパク質のシェディングを担うメタロプロテアーゼ群について高いスコアを与えられた切断部位のクラスターを同定した(黒線で囲まれた部分)。(右) その切断部位周辺配列に高い頻度で現れたアミノ酸が図示されている。点線は切断部位を示す。