OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Structural basis for the Gip1-mediated sequestration of heterotrimeric G proteins in the cytosol for wide-range chemotaxis
Author(s)	宮川, 武朗
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/72612
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　宮川　武朗　）	
論文題名	Structural basis for the Gip1-mediated sequestration of heterotrimeric G proteins in the cytosol for wide-range chemotaxis （走化性ダイナミックレンジを調節する、三量体Gタンパク質シャトリングの構造基盤の解明）

論文内容の要旨

A social amoeba *Dictyostelium discoideum* moves toward the source of chemoattractant along the wide-range chemical gradient using G protein-coupled receptors. In a cell, heterotrimeric G proteins are sequestered in the cytosol and translocated from the cytosol to the plasma membrane in a chemoattractant-dependent manner, resulting in the wide-range chemotaxis. This G protein shuttling is mediated by G protein interacting protein 1 (Gip1). However, it remains elusive how G proteins are sequestered in the cytosol at the resting state. Here, I unveil the structural basis of the Gip1-mediated sequestration of heterotrimeric G proteins in the cytosol. A structure of G protein binding region of Gip1 showed a central hydrophobic cavity accommodating a phospholipid. Another form of Gip1 structure obtained in this study showed that rotational movements around α1- and α6-helices changed the cavity shape. The overall structure of G protein binding region of Gip1 was distinct from solubilization factors but similar to tumor necrosis factor-α-induced protein 8 (TNFAIP8) family proteins. Biochemical experiments indicated that the geranylgeranyl moiety on Gγ subunit of heterotrimeric G proteins was essential for complex formation with Gip1 in the cytosol, although Gip1 did not bind to other prenyl-modified proteins. Further studies of tryptophan and alanine mutagenesis revealed that the hydrophobic cavity and a C-terminal tail region were required for the complex formation. Finally, mutations in both the cavity and the C-terminal tail impaired the chemotactic ability at the higher concentration. These researches elucidate the significance of the hydrophobic cavity of Gip1 for the G protein sequestration in the cytosol. There are some proteins solubilizing and trafficking small G proteins inside a cell, but it is the first report revealing the structural mechanism of solubilizing heterotrimeric G proteins. Since mammalian cells encode TNFAIP8 family proteins, whose molecular mechanism has not been well studied, the G protein shuttling could be a widely conserved mechanism regulating the activity of heterotrimeric G proteins.

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　宮川　武朗　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主査　教授 副査　教授 副査　教授	上田　昌宏 石井　優 中川　敦史

論文審査の結果の要旨

走化性細胞は１０万倍にも及ぶ広範囲な応答領域で化学物質の濃度勾配に沿った細胞運動を示すことができる。このような特性には三量体Gタンパク質が細胞膜と細胞質間の局在をダイナミックに変化させる「Gタンパク質シャトリング」が必要であることが分かっていた。細胞性粘菌*Dictyostelium discoideum* で発見された Gip1 タンパク質は、三量体Gタンパク質と結合し、その局在を細胞質に保持する機能を持つ。すなわち「Gタンパク質シャトリング」の制御にはたらくタンパク質である。しかしながら、Gip1がGタンパク質の細胞内局在を制御する分子メカニズムは明らかになっていなかった。

本論文において、Gip1の立体構造からGタンパク質シャトリングの分子基盤を解明することに成功した。X線結晶構造解析からGip1には疎水性の穴（cavity）が存在し、この穴を利用してGタンパク質のγサブユニットの脂質修飾部位と結合していた。また、この両者の複合体形成が走化性の応答域を高濃度側に拡張していることが確認された。さらに、本論文では、Gip1の二種類の異なる構造を明らかにして、Gip1が持つ穴の大きさに違いを見出した。このような構造変化によって、Gタンパク質はGip1から解離し細胞膜に移行することが示唆された。これらの成果は、新規性が高く、生命科学の広い分野に有用な知見を与えるものであり、学位の授与に値する。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。