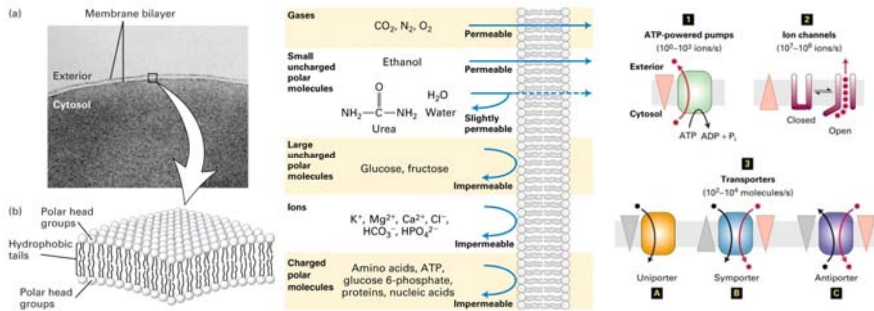


第3回 細胞膜の構造と膜輸送



1. 細胞(生体)膜の構造を理解する。
2. 膜を介した物質の輸送を理解する

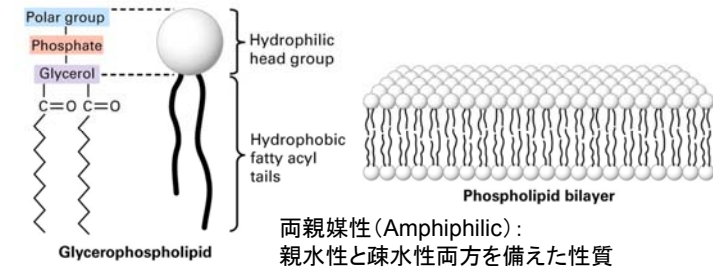
教科書11章&12章

生体膜 Biological membrane

教科書:P132-134

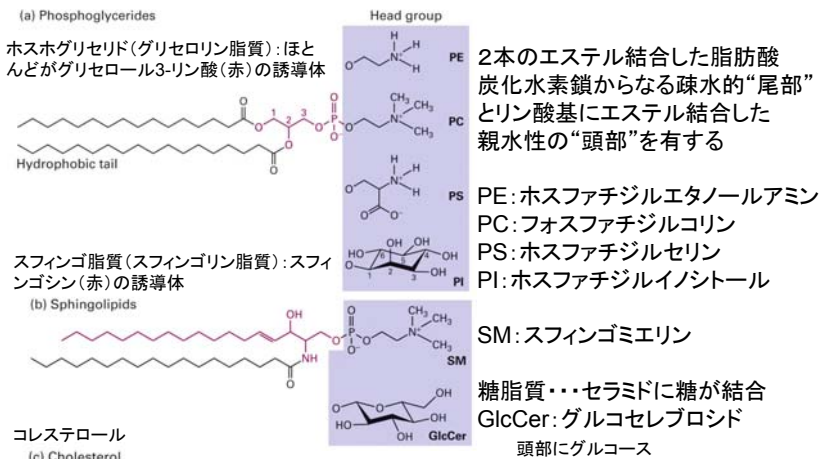
生体膜: 細胞と外界を隔てる細胞膜
& 真核細胞内の細胞小器官など様々な膜区画

基本構造は、脂質二重層(Lipid bilayer: 厚さ6~10nm)



生体膜の脂質: リン脂質 と コレステロール

3種類の生体膜脂質

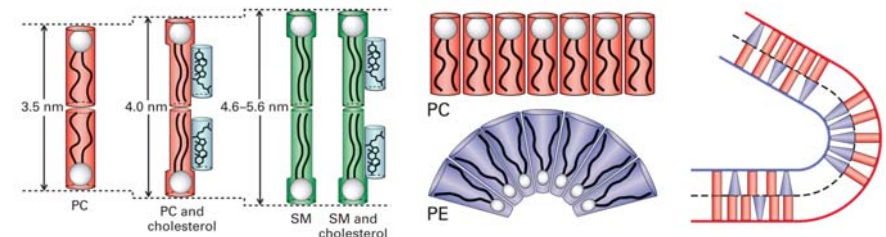


教科書p75-79

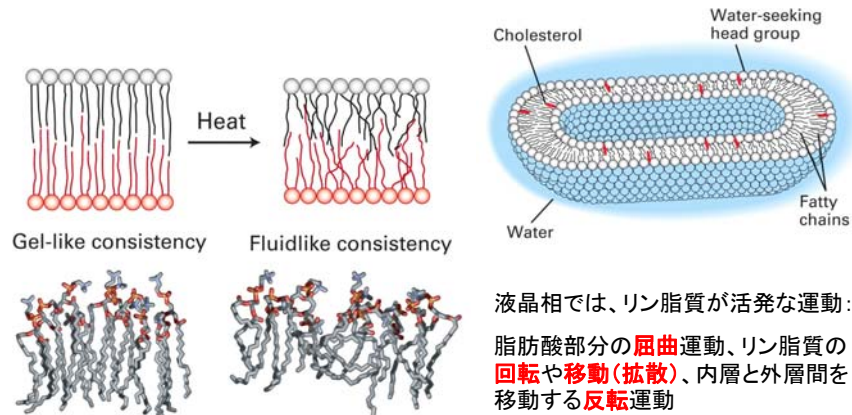
脂質組成が二重層の厚みと曲率に及ぼす影響

部位	生体膜を構成する主な脂質組成(%)			
	PC	PE+PS	SM	コレステロール
細胞膜(ヒト赤血球)	21	29	21	26
ミエリン膜(ヒト神経細胞)	16	37	13	34
細胞膜(大腸菌)	0	85	0	0
小胞体膜(ラット)	54	26	5	7
ゴルジ膜(ラット)	45	20	13	13
ミトコンドリア内膜(ラット)	45	45	2	7
ミトコンドリア外膜(ラット)	34	46	2	11
リーフレットの主な部位	反細胞質側面	細胞質側面	反細胞質側面	両方

PC= Phosphatidylcholine, PE=Phosphatidylethanoamine, PS=Phosphatidylserine, SM=Sphingomyelin

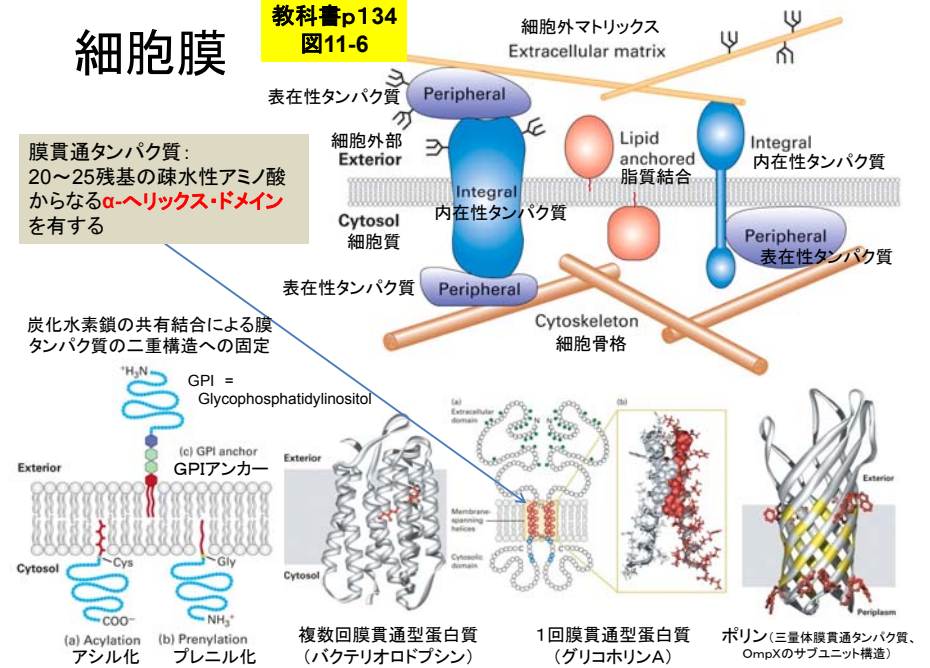


教科書P132～134

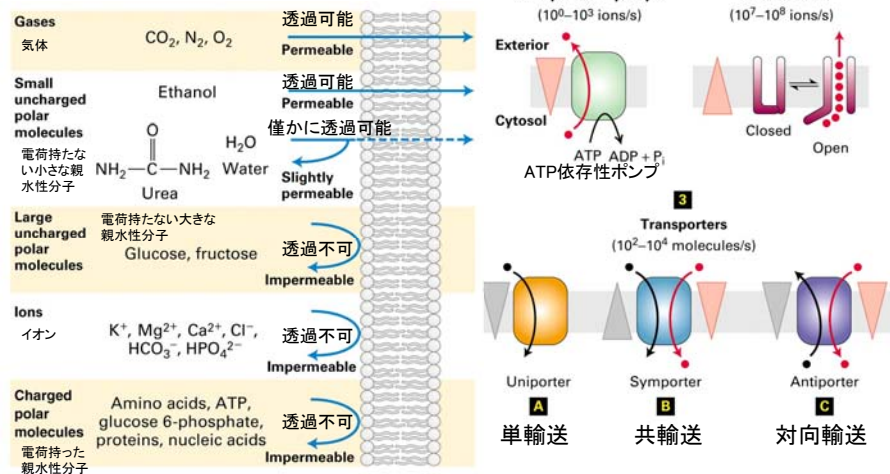


生命活動をするためには適度の膜の流動性が必要

教科書p134
図11-6



教科書p134

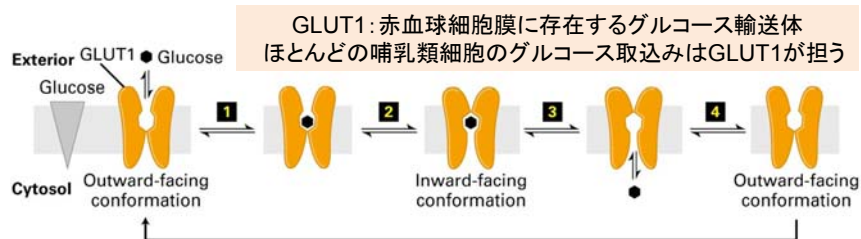


細胞の重要な生理機能：細胞質pHの維持、方向性を持った水の流れ
⇒ 細胞膜上の輸送蛋白質の組合せに依存

細胞膜を横切って輸送するしくみ

輸送のしくみ				
性 質	受動拡散	促進拡散	能動輸送	共輸送
特別な蛋白質が必要	—	+	+	+
濃度勾配に逆らって溶質を輸送	—	—	+	+
ATP加水分解と共役	—	—	+	—
共輸送されるイオン濃度勾配に従った動きにより駆動	—	—	—	+
輸送される分子の例	O ₂ 、CO ₂ 、ステロイドホルモン、多くの薬物	グルコースとアミノ酸（単一輸送体）、イオンと水（チャネル）	イオン、小さな親水性分子、脂質（ATP依存性ポンプ）	グルコースとアミノ酸（等方輸送体） 種々のイオンとシュクロース（対向輸送体）

単輸送機構モデル(GLUT1の場合)



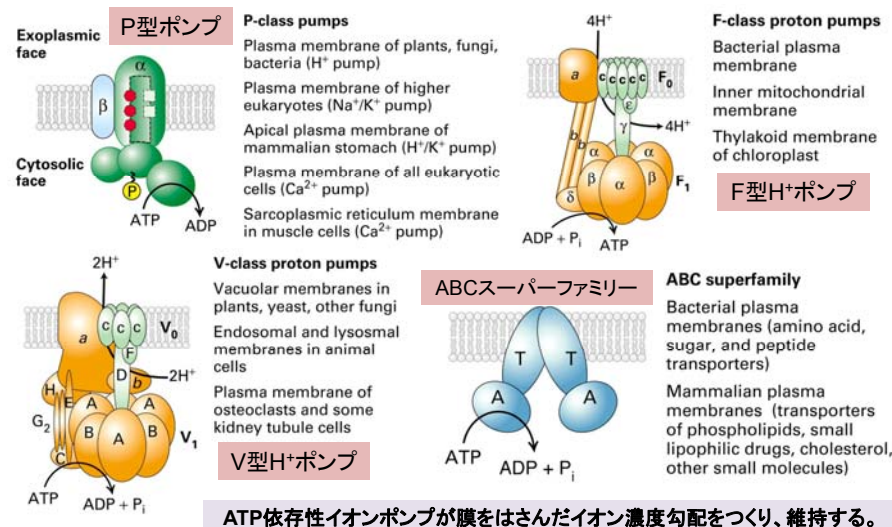
一方の状態ではグルコース結合部位が外側を向いているが、他方では内向き

- ① グルコースが外向きに開口した結合部位に結合する
- ② 輸送体に構造変化が起き、グルコース結合部位が内向きになる
- ③ グルコースは細胞内に放出される
- ④ 輸送体はもとに戻る構造変化起し、結合部位は再び外側を向く

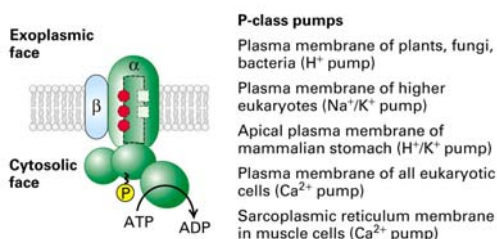
細胞内グルコース濃度が外部より高い場合はこの順番が逆になり、内部のグルコースを外部に放出する

ATP依存性ポンプ

特有の構造と機能特性を有する4種類のATP依存性ポンプが存在



ATP依存性P型ポンプ



植物、菌類、細菌の細胞膜(H^+ ポンプ)
高等真核細胞の細胞膜(Na^+/K^+ ポンプ)
哺乳類胃壁細胞内腔面の細胞(H^+/K^+)
全真核細胞の細胞膜(Ca^{2+} ポンプ)
筋細胞の筋小体膜(Ca^{2+} ポンプ)

ATP依存性イオンポンプが膜をはさんだイオン濃度勾配をつくり、維持する。

哺乳動物細胞における
典型的な細胞内外のイオン組成

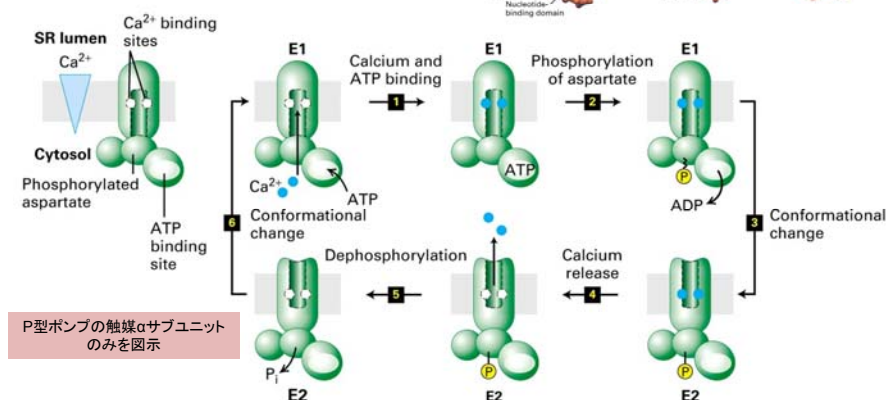
イオン	細胞内(mM)	細胞外(mM)
K^+	139	4
Na^+	12	145
Cl^-	4	116
HCO_3^-	12	29
X^-	138	9
Mg^{2+}	0.8	1.5
Ca^{2+}	<0.0002	1.8

X⁻は、タンパク質を示す。タンパク質はpHがほぼ中性である血液中や細胞内では負の電荷をもつ。

ATP依存性P型ポンプ (1)

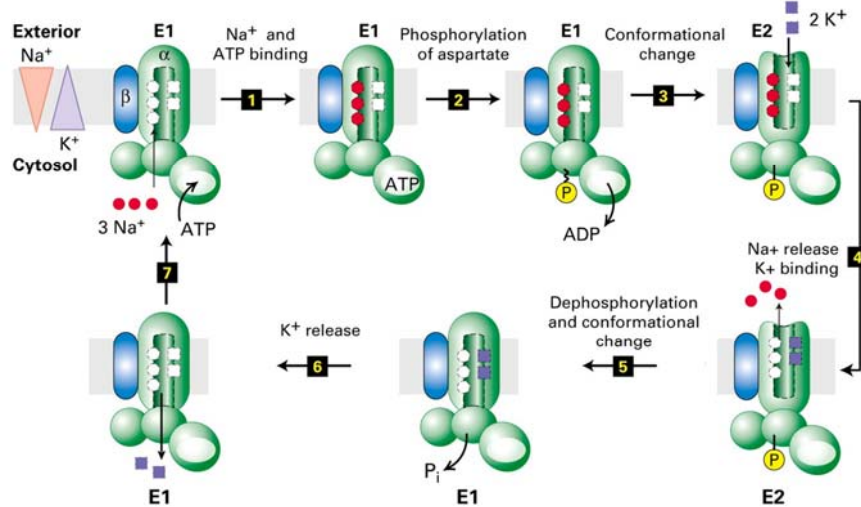
単輸送

P型ポンプでは、触媒 α サブユニットのリン酸化による構造変化がATP加水分解とイオン輸送を共役させるために必要

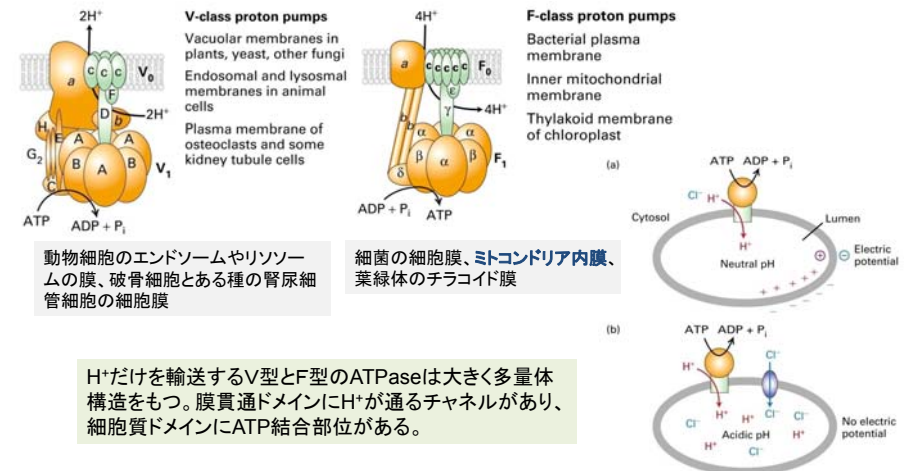


ATP依存性P型ポンプ (2)

対向輸送

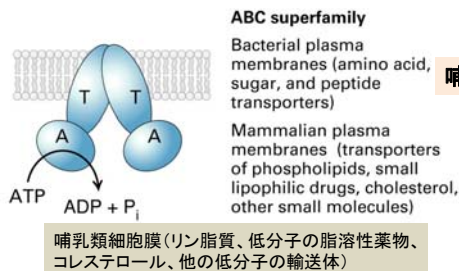


ATP依存性V型およびF型H⁺ポンプ



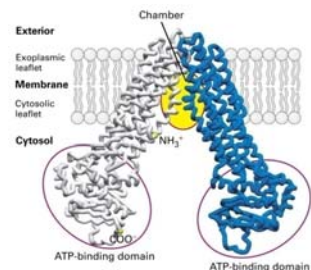
動物のエンドソームやリソソーム膜、植物の液胞膜に存在するV型H⁺ポンプはそれらの細胞小器官内のpHを周囲の細胞質より低くしている(上b図)

ATP依存性ABCスーパーファミリー

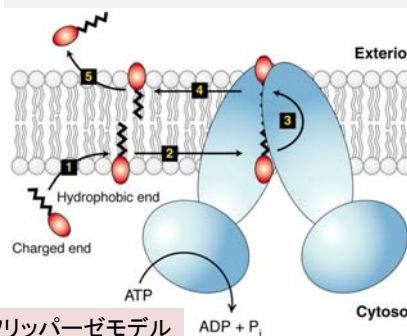


哺乳類には約50種のABC型ポンプが存在

数が多く多様性に富むABCスーパーファミリーのタンパク質は全て4つの主要なドメインからなり、2つは膜貫通ドメインで溶質の通る通路を形成し、基質特異性を決定。残り2つは細胞質側にあるATP結合ドメイン。

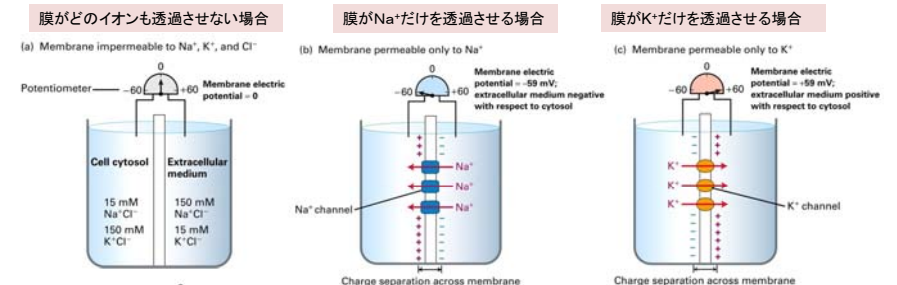


哺乳類MDR1と似たABCタンパク質の大腸菌脂質フリッパーゼの構造モデル



フリッパーゼモデル

イオンの選択的移動による膜電位の発生



動物細胞の膜電位は静止K⁺チャネルに大きく依存する。
動物細胞の細胞膜には常に開いたK⁺チャネルが多く存在するが、Na⁺やCl⁻やCa²⁺チャネルの開いたものはほとんど存在しない。その結果、細胞膜ではK⁺だけが濃度勾配に従って内側から外側に動き、内側に負の電荷を残し、外側に正の電荷を蓄積する。

植物や菌類では、ATP依存的にH⁺が細胞質外に放出され、膜電位が生じる。

すべての細胞の細胞膜には内側が負の50~70mVの電位が存在する。

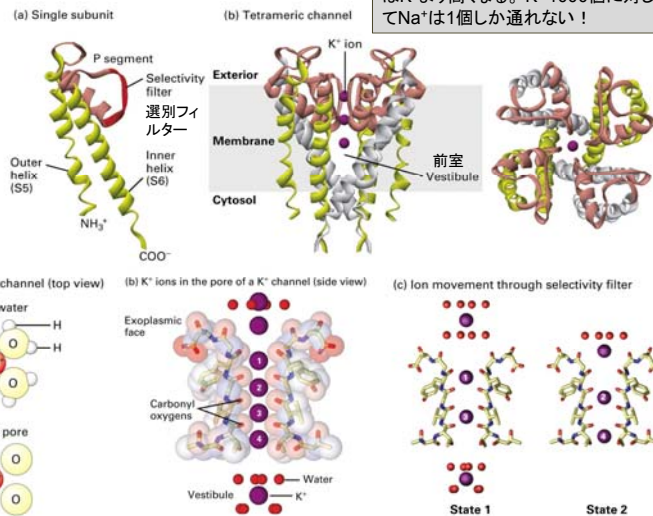
K⁺チャネル

K⁺が選別フィルターを通る時、配位している水を失うが、ポリペプチド鎖上の8個のカルボニル酸素がそこに配位する。
K⁺より小さいNa⁺はカルボニルの酸素と完璧に配位できないのでチャネルを通り抜けることはほとんどない。前室で再び8個の水に取り囲まれる。

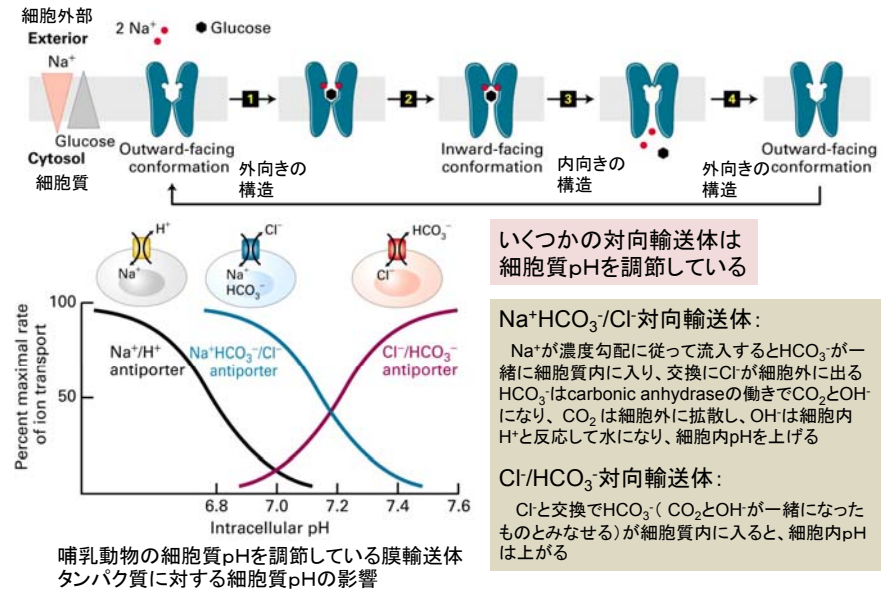
Na⁺通過に必要な活性化エネルギーはK⁺より高くなる。K⁺ 1000個に対してNa⁺は1個しか通れない！

同一サブユニット4個から構成され、各サブユニットには2つの膜貫通αヘリックスとイオン通路を内張りするPセグメントが存在

Ca²⁺は水と水がなくても大き過ぎてK⁺チャネルを通れない。



共(等方・対向)輸送体の作用機構



水の移動

純粋なリン脂質二重層は水を全く通さない
⇔ 水は浸透圧により複数の膜を通り抜けて移動
水の出し入れをすばやく行う水チャネルが存在

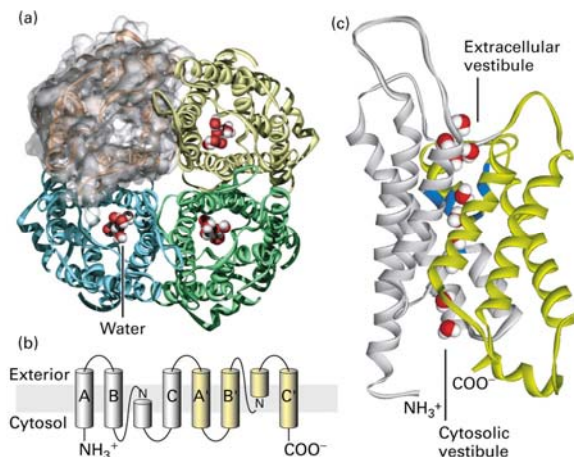
水チャネルタンパク質アキアポリンの構造
4個の同一サブユニットからなるアキアポリン四量体の構造モデル

細胞内部より溶質濃度が高い(低い)液を高(低)張液といい、ほとんど同じ液を等張液という

動物細胞...

等張液でも細胞外イオンが濃度勾配に従って徐々に漏入...これを出さないと...浸透による水の流入起こり、細胞は破裂
動物細胞では、ATP依存性Na⁺/K⁺ポンプ(3Na⁺を放出して2K⁺を取り込む)が主要な役割...体積維持

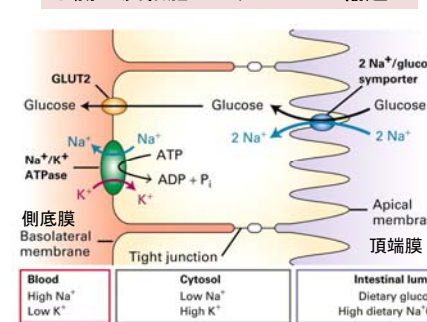
各サブユニット内に膜貫通αヘリックスが6個存在し、それらが水の通る中央孔を形成



上皮細胞を通り抜ける輸送

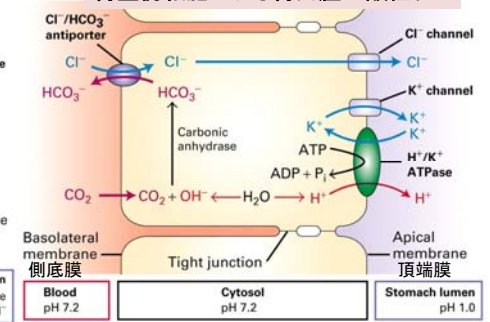
上皮細胞の頂端側と側底側の膜には異なる輸送蛋白質群が存在し、異なった輸送を行っている

小腸上皮細胞でのグルコース輸送



頂端膜のNa⁺と共役した等方輸送体と側底膜にあるNa⁺/K⁺ATPaseや単一輸送体が共同して働き、小腸内腔のアミノ酸やグルコースを血液中に細胞横断輸送している。

胃壁傍細胞による胃内腔の酸性化

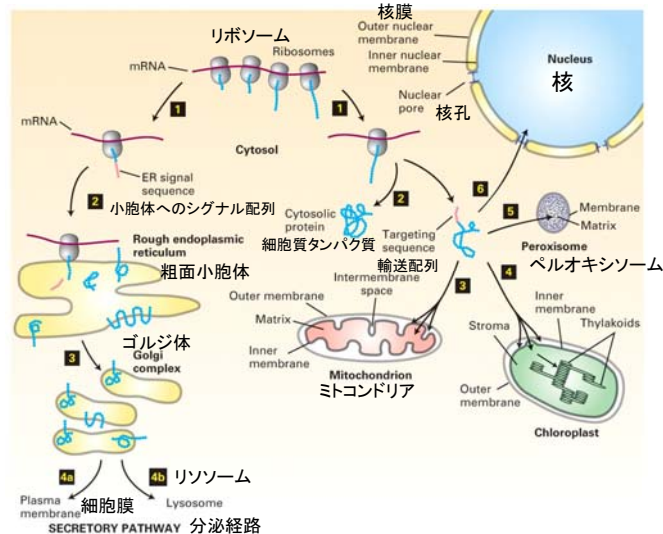


炭酸anhydraseと4種類の輸送タンパク質が協同して働かせることで、胃壁の傍細胞はHClを内腔に放出して酸性化(胃酸=0.1MのHCl溶液)するが、細胞内はほぼ中性に保つことができる。

細胞内での膜を介した輸送

教科書p147

真核細胞内での主要なタンパク質選別経路の外観



分泌タンパク質の小胞体内への翻訳時輸送

N末端のシグナル配列(疎水性アミノ酸並ぶ部分を含む)にシグナル認識粒子(SRP)が結合(1~2)

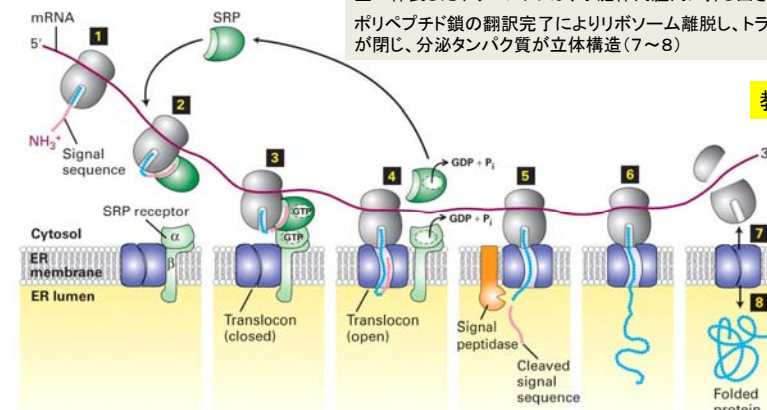
SRPがSRP受容体に運び結合(相互作用はGTP結合でより強固に:3)

伸長中のポリペプチド鎖がトランスロコン中に挿入されるとチャネル開口。GTPの加水分解によりSRPと受容体は次のポリペプチド鎖の挿入へ(この加水分解エネルギーが挿入過程を駆動:4)

小胞体内に入ったシグナル配列は内腔のシグナルペプチダーゼが切断⇒分解(5)

益々伸長したポリペプチドは、小胞体内腔内に押し出される(6)

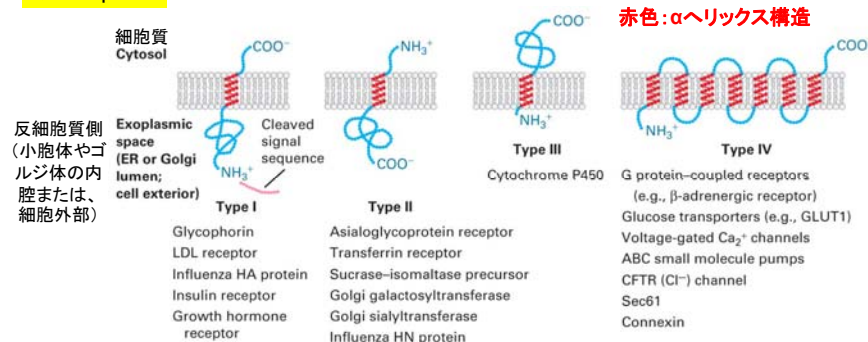
ポリペプチド鎖の翻訳完了によりリボソーム離脱し、トランスロコンが閉じ、分泌タンパク質が立体構造(7~8)



教科書p150

四種類の膜貫通型タンパク質

教科書p151



タイプ I
グリコリン
LDL受容体
インフルエンザHAタンパク質
インスリン受容体
成長ホルモン受容体

タイプ III
シトクロムP450

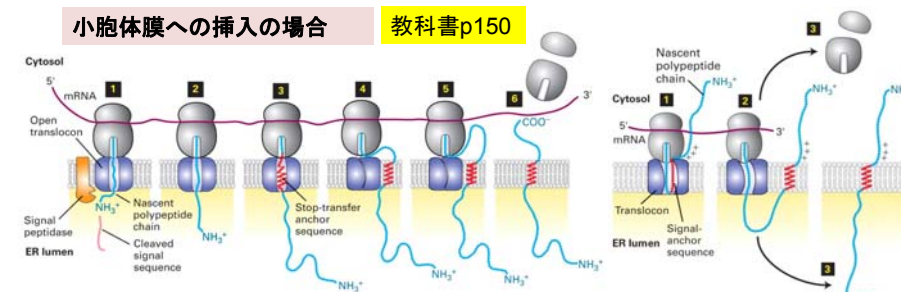
タイプ II
アシアロ糖蛋白質受容体
トランスフェリン受容体
シュクラーゼ - イソマルターゼ前駆体
ゴルジガラクトシルトランスフェラーゼ
ゴルジシアルトランスフェラーゼ
インフルエンザHNタンパク質

タイプ IV
Gタンパク質共役型受容体
(アドレナリンβ受容体)
グルコース輸送体(GLUT1)
電圧依存性Ca²⁺チャネル
CFTR(Cl⁻)チャネル
Sec61
コネクシン

I・II型一回膜貫通型タンパク質の合成・挿入

小胞体膜への挿入の場合

教科書p150



I型一回膜貫通型タンパク質

輸送阻止 - 膜係留配列が合成されトランスロコンに入るが、それ以降は小胞体内腔に入れない(3)

輸送阻止 - 膜係留配列がトランスロコン構成タンパク質サブユニットの間からリン脂質二重層中に出て係留される(4)

ポリペプチド鎖はトランスロコンとリボソームの隙間から細胞質側に出てくる(5)

合成終わるとリボソームは細胞質に放出され、蛋白質は膜内を自由に拡散(6)

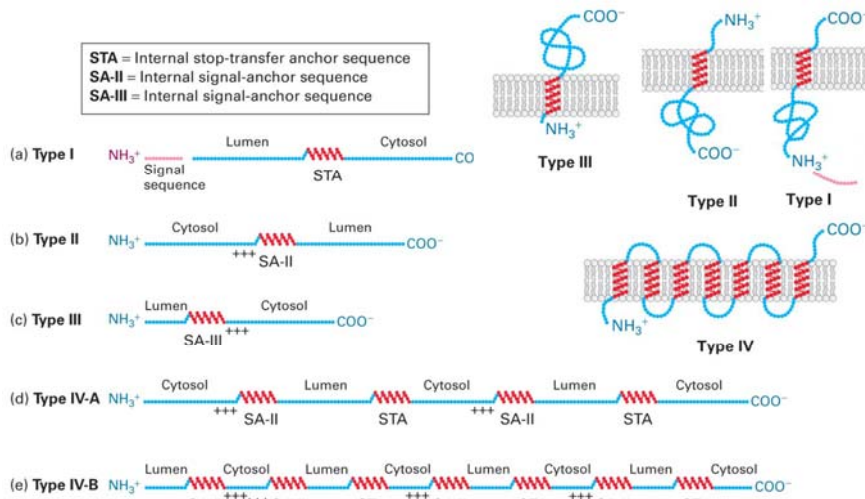
II型一回膜貫通型タンパク質

中央部のシグナル - 膜係留配列がリボソーム上で合成されるとSRPが結合し、NH₂末端が細胞質に向かうようにトランスロコンに入る(1)

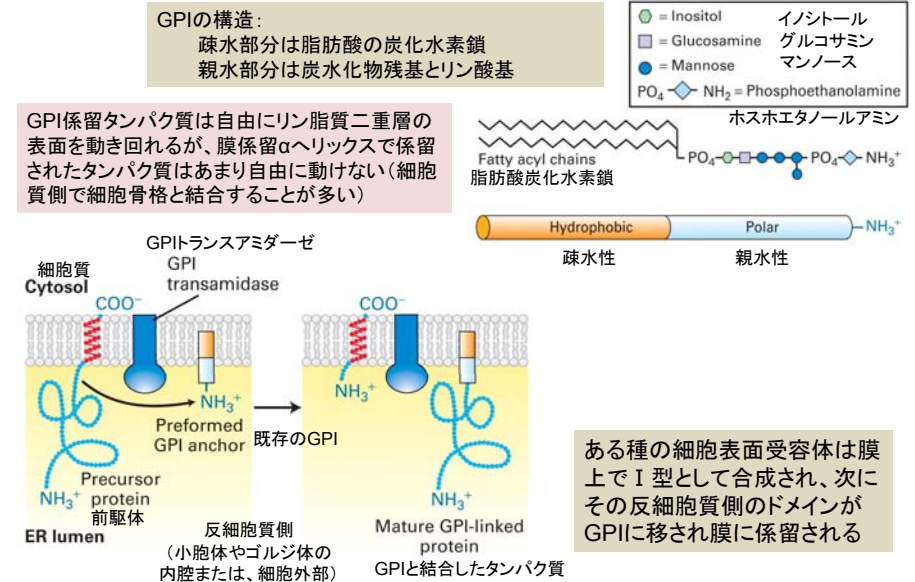
ペプチド鎖が小胞体内部に押し出され、シグナル - 膜係留配列がリン脂質二重層に入り込み、ポリペプチド鎖を係留する(2)

タンパク質合成完了とともにC末端が小胞体内部に放出され、リボソームも細胞質に放出(3)

複数回膜貫通型タンパク質の空間配置は I～Ⅲ型一回膜貫通型タンパク質の組合せ



GPIアンカーにより係留されるタンパク質

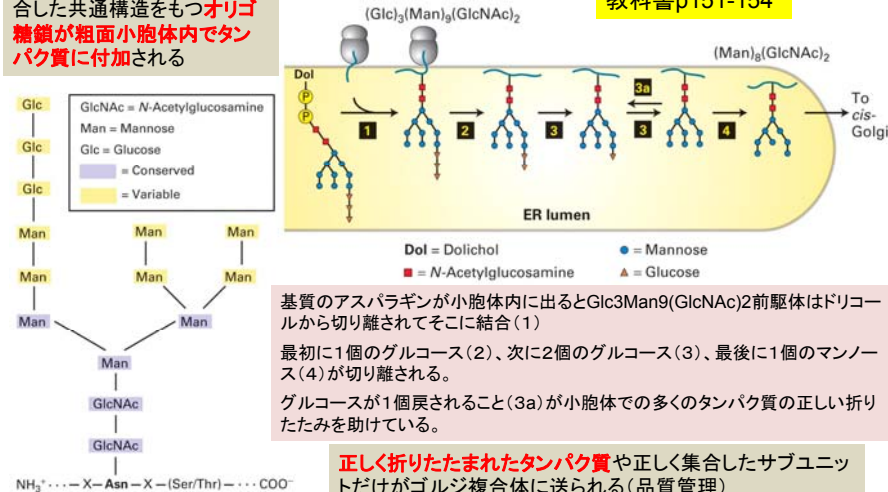


タンパク質の修飾、折りたたみと小胞体内での品質管理

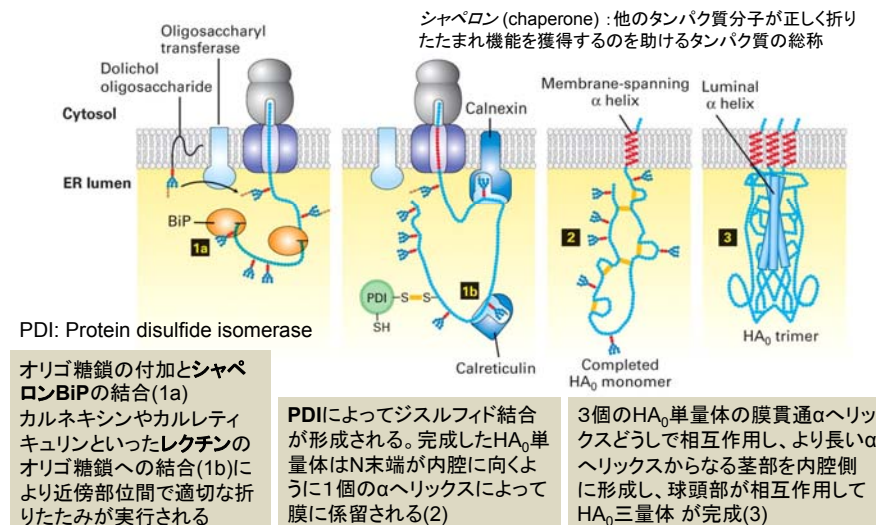
予め作られたN-グリコシド結合した共通構造をもつオリゴ糖鎖が粗面小胞体内でタンパク質に付加される

粗面小胞体内でのN-グリコシド結合したオリゴ糖鎖の付加と初期プロセッシング

教科書p151-154

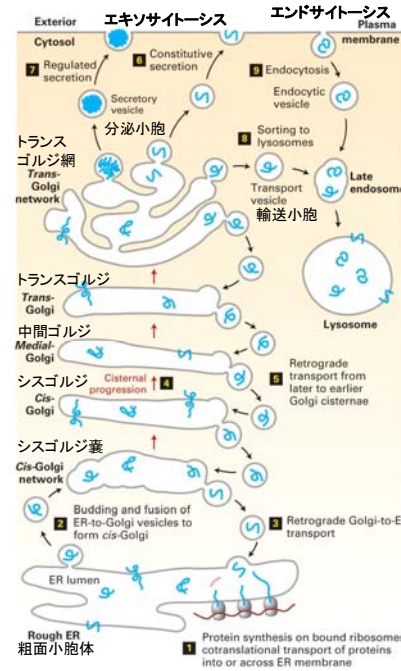
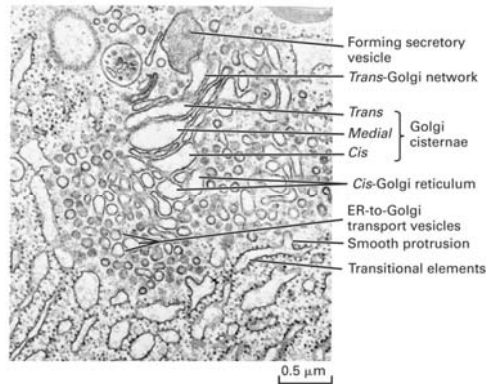


【例】小胞体での赤血球凝集素前駆体HA₀の折りたたみと三量体形成



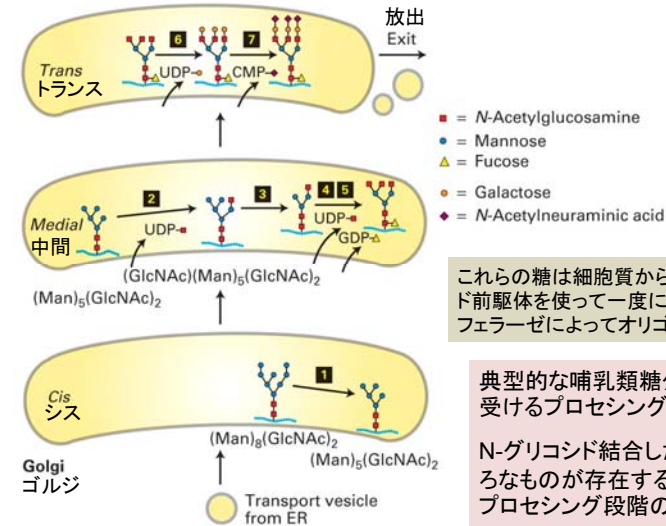
分泌経路とエンドサイトーシス経路

教科書p151~



N-グリコシド結合した複合型糖鎖のゴルジでのプロセッシング

教科書p153



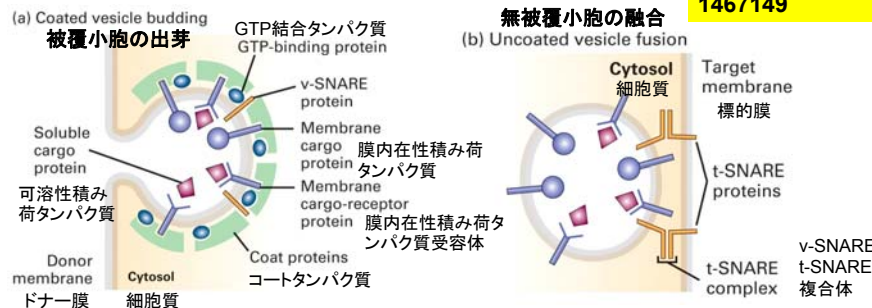
これらの糖は細胞質から取り込んだ糖スクレオチド前駆体を使って一度に一個ずつ特異的トランスフェラーゼによってオリゴ糖につけられていく

典型的な哺乳類糖タンパク質がゴルジで受けるプロセッシング過程

N-グリコシド結合したオリゴ糖鎖にいろいろなもの存在するのは、このゴルジでのプロセッシング段階の違いによる

小胞輸送体の出芽と融合

教科書p1467149



GTP結合タンパク質が膜の一区画に結合して出芽が開始

細胞質コートタンパク質複合体が内腔の可溶性積み荷タンパク質の受容体や膜内在性積み荷タンパク質の細胞質側部位と結合し出芽小胞内に積み荷タンパク質を集める

出芽が終わり、被覆を脱ぎ捨てた小胞は対となるSNAREタンパク質の相互作用が関与する過程を経て標的膜と融合

小胞体とシスゴルジ間の小胞によるタンパク質輸送

教科書p147-149

順行性輸送はCOPII小胞が、逆行性輸送はCOPI小胞によって行われる。

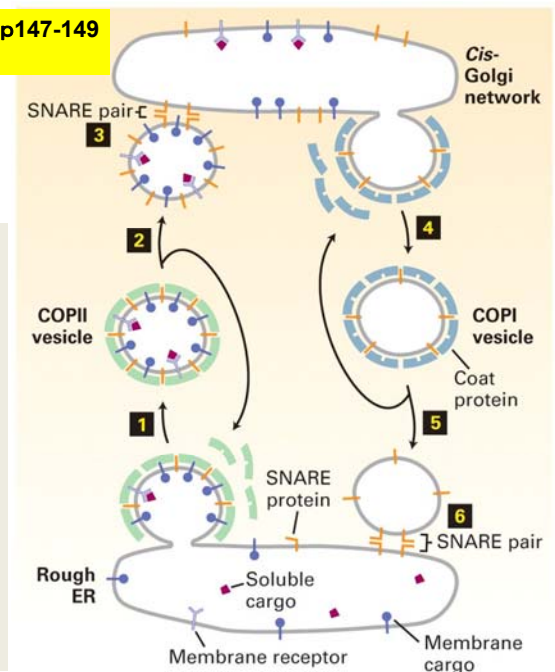
それぞれ可溶性被覆タンパク質であるCOPIIとCOPIが小胞体膜上で重合して形成される。

小胞体膜上のv-SNAREや他の積み荷タンパク質は被覆タンパク質との相互作用により小胞内に取り込まれる。

可溶性積み荷タンパク質は出芽小胞膜に存在する受容体を介して小胞内に取り込まれる。

被覆の解離は遊離被覆タンパク質を再生し、小胞表面にv-SNAREタンパク質を露出させる。

3と6のそれぞれのv-SNAREやt-SNAREタンパク質は異なるタンパク質。



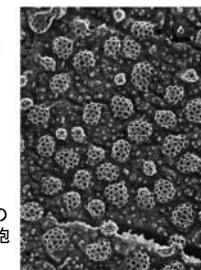
分泌経路とエンドサイトーシス経路

3種類(COP I, COP II, クラスリン)の被覆タンパク質が使用

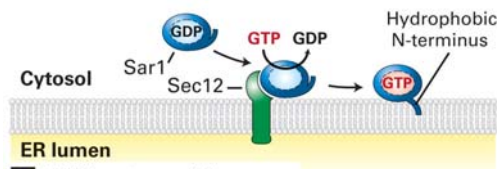
クラスリン分子はトリスケリオンと呼ばれ、3個の重鎖と3個の軽鎖からできており、小胞の周りの繊維状クラスリン被覆は36個のクラスリントリスケリオンからなる。

教科書p148

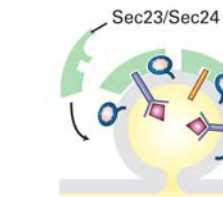
細胞膜細胞質側のクラスリン被覆小胞



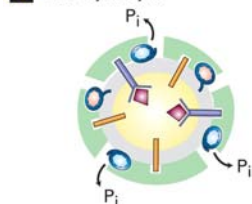
1 Sar1 membrane binding, GTP exchange



2 COPII coat assembly



3 GTP hydrolysis



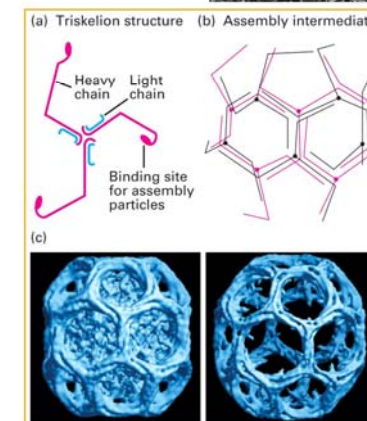
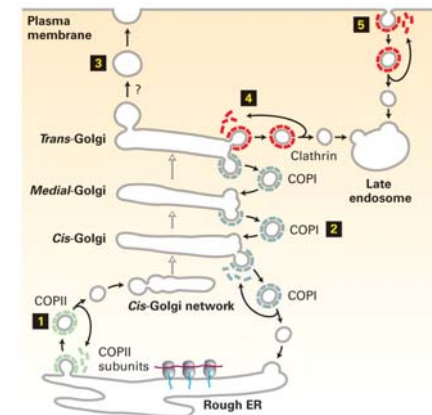
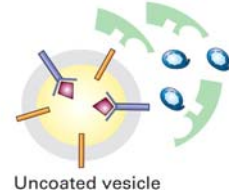
GDP結合可溶性Sar1と小胞体膜内在性タンパク質のスクレオチド交換因子Sec12との相互作用でSar1上のGDPがGTPと交換。GTPが結合したSar1では疎水性N末端が外に広がりSar1を小胞体膜に係留(1)

膜に結合したSar1はSec23/sec24被覆タンパク質複合体の結合部位になる。積み荷タンパク質は選別配列(細胞質側領域の短い特異的配列)がSec23/sec24複合体上の部位と結合すると形成中の小胞体内に集められる(2)

小胞被覆が完成後、被覆サブユニットSec23がSar1によるGTP加水分解を促す(3)

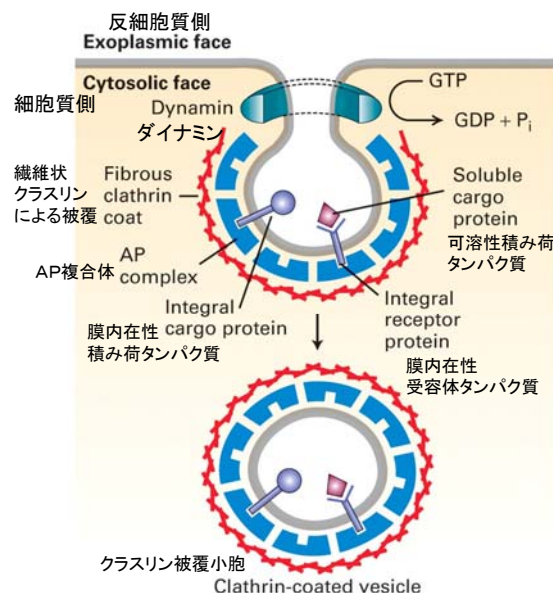
Sar1-GDPが小胞体から放出されると被覆は解離する(4)

4 Coat disassembly



トランスゴルジからの出芽とエンドサイトーシス

教科書p148

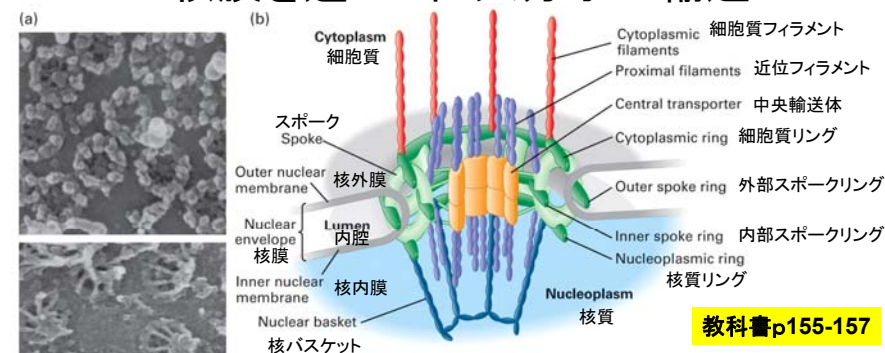


小胞出芽が形成後、首のまわりにダイナミンが重合(その仕組みはよく分かっていない)

ダイナミンによるGTP加水分解が小胞をもとの膜から切り離す

もとの膜にあった膜タンパク質がAP複合体との相互作用により小胞内に取り込まれる

核膜を通じた巨大分子の輸送



教科書p155-157

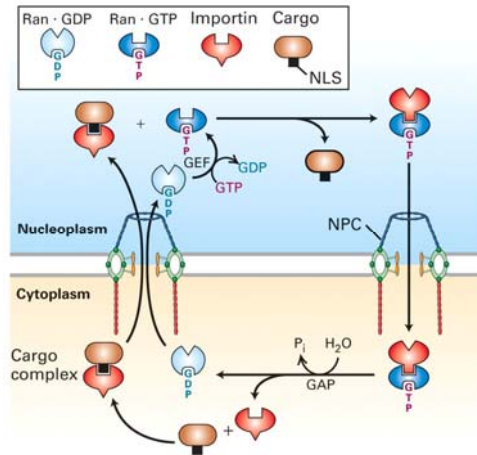
核孔複合体

核内でmRNAのプロセッシングが完了しても、mRNAはメッセンジャーリボ核タンパク質複合体(mRNP)として特定のhnRNPタンパク質と結合している。mRNAがコードしているタンパク質に翻訳されるためには核から細胞質に輸送される。

mRNP、tRNA、リボソームサブユニットなどの巨大分子の核外への輸送と、細胞質で合成されたすべての核タンパク質の核内への輸送は、すべて核孔(nuclear pore)を通して行われる。

積み荷タンパク質の核内輸入機構

教科書p155-157



解離したインポーチンが積み荷タンパク質のNLSに結合し、積み荷複合体を形成。

積み荷複合体はFGヌクレオポリンと相互作用してNPCを通じて拡散。

核内では、Ran-GTPのインポーチンとの相互作用が立体構造の変化をもたらし、NLSへの親和性を低下させ積み荷を解離

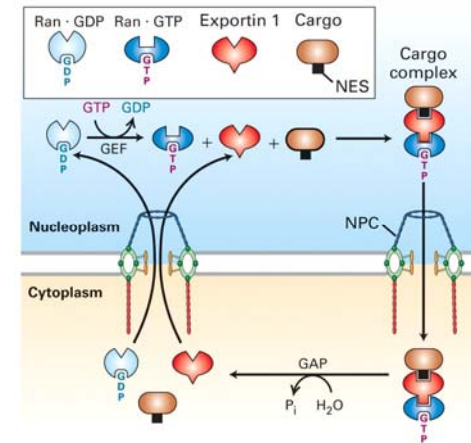
次回の輸送に備えて、インポーチン - Ran-GTP複合体は細胞質に逆送

NPCの細胞質フィラメントに結合したGTPase促進タンパク質(GAP)はRanが結合したGTPの加水分解を促進し、立体構造変化によるインポーチンからの脱離をもたらす

Ran-GDPは核質に戻され、グアニンヌクレオチド交換因子(GEF)がGDPの解離とGTPの再結合をもたらす

核外輸出シグナル(NES)を含む積み荷タンパク質の核外輸出機構

教科書p155-156



核質でタンパク質エクスポート1はRan-GTPと協同的に輸送される積み荷タンパク質のNESに結合して積み荷複合体を形成

積み荷複合体がFGヌクレオポリンのFGリピートとの一時的な相互作用でNPCから拡散した後でNPC細胞質フィラメントと結合したRan-GAPがRan-GTPからRan-GDPへの変換を促進し、これに伴う立体構造の変化が複合体の解体につながる

積み荷タンパク質は細胞質に解離されるが、エクスポート1とRan-GDPは核内に逆送され、核質Ran-GEFによってRan-GTPに変換される

練習問題

1. 動物細胞で膜電位を生じさせているチャネルは何か？
2. 細胞の体積維持に重要な役割を果たしているのは、受動拡散、促進拡散、能動輸送、共輸送のうちどれか？また、哺乳動物で主要な働きをしている輸送体について述べよ。
3. イオンや分子を能動輸送するATP依存性ポンプには4つのタイプがある。それらの名称をあげよ。それらのうちのどれがイオンだけを輸送し、どれが主に低分子を輸送するのか。
4. 新たに合成されたタンパク質の“品質管理”に小胞体は重要な役割を果たしている。ここでいう品質管理とはどのようなことか。