

膜輸送体の作動機構の 構造基盤の解明

東京大学 大学院理学系研究科 教授

濡木 理

(お問い合わせ先) E-MAIL : nureki@bs.s.u-tokyo.ac.jp



研究の背景

膜輸送体は、膜を介して物質を生体内外に輸送することで、細胞質を外部環境と異なる状態で維持するという細胞の生存にとって不可欠な役割を果たしています。膜輸送体が機能するうえで重要な点は、その機能の本体である「輸送の機構」、輸送する基質を識別する機構、輸送を制御する機構があげられます(図1、A~C)。しかし、試料調製や結晶化などの問題から膜輸送体を含む膜蛋白質の立体構造を決定することは困難で、膜輸送体の理解は世界的にも限られていました。私たちは、X線結晶構造解析による構造的基盤の解明や分子動力学 (MD) シミュレーションによるダイナミクスの解明、さらに *in vivo/vitro*における機能解析による実験的な検証の3つの方法を用いて膜輸送体の分子機構を原子分解能で明らかにしました(図1、1~3)。

研究の成果

私たちは、膜輸送体をLCP法により結晶化し、SPring-8シンクロトロンの高輝度放射光を用いて、結晶化した10個の膜輸送体の構造を高分解能で決定し、その分子機構を解明してきました。ここでは、3つの例を説明します。
Ca²⁺/H⁺トランスポーターCAX Ca²⁺/カチオン交換輸送体 (CaCA) の機能不全は、ヒトでは高血圧を引き起こします。Ca²⁺/H⁺交換輸送体CAXの結晶構造を 2.3Å分解能で決定したところ、コアドメインとゲーティングバンドルから構成されていることが明らかになりました(図2、*Science*, 2013)。すでに発表されているCa²⁺/Na⁺交換輸送体の構造が細胞外開構造であったのに対し、CAXは細胞内開構造でした。また、2つの構造の比較から、CaCAではゲーティングバンドルがコアの上の疎水性パッチ上を滑るとゲーティングヘリックスが半回転し、続いてその上の親水性クラスターが細胞外側の透過孔や細胞内の透過孔に向くことで、細胞外開構造と細胞内開構造の間を構造変化することがわかりました。さらに、ゲーティングバンドルが滑るための疎水性パッチは、H⁺やCa²⁺の結合に依存して形成されることが明らかになり、CaCAの陽イオン依存的な構造変換の機構を解明しました。
多剤排出トランスポーターMATE MATEは、腎臓や肝臓においてH⁺やNa⁺の濃度勾配を利用して細胞にとって異物となる多様な物質を細胞外に排出する膜輸送体です。しかし、このような多剤排出輸送体は、抗生物質の効かない病原菌や抗がん剤の効かないがん細胞出現の主

因となっており、近代医療への脅威になっています。私たちは、H⁺駆動型MATEと薬剤基質および環状ペプチドとの複合体の結晶構造を2.1Åという高分解能で決定することに成功しました(図3、*Nature*, 2013)。MATEは外向き開口構造を取っており、外縁に存在するアスパラギン酸残基がプロトン化すると第一膜貫通ヘリックスが折れ曲がり、これにより薬剤結合ポケットがふさがれることで薬剤が細胞外に放出される、という新規の分子メカニズムを世界に先駆けて解明しました。さらに、東京大学の菅博士との共同研究でスクリーニングした環状ペプチドとMATEの複合体の結晶構造を決定しました。本環状ペプチドが薬剤ポケットを占拠することでMATEの輸送活性を阻害することが明らかになり、これまで阻害剤開発が不可能であったMATEに対するペプチド創薬の道を開くことができました。

蛋白質輸送体YidC 私たちは蛋白質の膜輸送を行う輸送体の構造機能研究も進めており、そのうち、膜組み込み蛋白質YidCの結晶構造を2.4Å分解能で決定しました(図4、*Nature*, 2014)。その結果、YidCには脂質内部に開いた親水性の凹みが存在し、その中のアルギニン残基が基質膜蛋白質の細胞外ループ上の負電荷を脂質中で強く引きつけると膜組み込みが引き起こされるというモデルを提唱することに成功しました。

今後の展望

この研究から、基質やカウンターイオンと結合し、膜貫通ヘリックスが曲がったり傾きが変わったりすると構造が変化し、輸送サイクルが進むことが、膜輸送体が機能するための共通原理であることが明らかになりました。ヒト遺伝子の10%が膜輸送体蛋白質をコードし、創薬ターゲットの約半分が膜蛋白質であることから、私たちが明らかにした立体構造や分子機構に基づいて、膜輸送体を標的とした創薬が可能になったり、変異体遺伝子をゲノム編集することによって、膜輸送体の変異による遺伝性疾患の治療も可能になると期待されます。

関連する科研費

2012-2015年度 基盤研究 (S) 「膜輸送体の作動機構の構造基盤の解明」

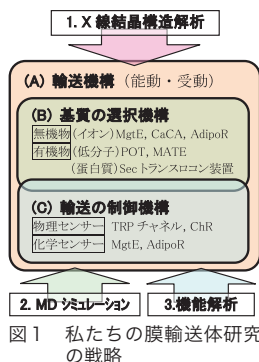


図1 私たちの膜輸送体研究の戦略

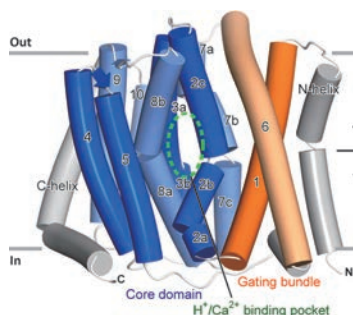


図2 CAXの構造

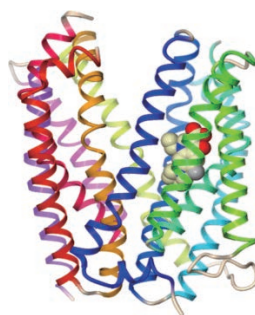


図3 MATEと抗生物質との複合体構造



図4 YidCの構造