

「イオン能動輸送機構の原子構造に基づく解明」

(平成 19～22 年度 特別推進研究 (課題番号: 19002013))

「イオン輸送体の構造生物学」

所属 (当時)・氏名: 東京大学・分子細胞生物学研究所・  
教授・豊島 近

1. 研究期間中の研究成果

・背景: 代表者らが取り組んで来た、筋小胞体カルシウムポンプ ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, SERCA1a) 反応中間体の構造解析とそれに基づくイオン能動輸送機構の理解を進展させ、最終的には結核菌等の病原菌の膜輸送体の構造解析を行うことによって薬剤の開発へと結びつけることを目指した。

・研究内容及び成果の概要: SERCA1a に関しては、小胞体内腔側ゲートが開いた E2P 状態の結晶構造を決定し(図 1)、その開閉機構と化学反応 (リン酸化 Asp の加水分解) との連関を明らかにするとともに、分子動力学シミュレーションによって、 $\text{Ca}^{2+}$  結合残基 E771 の変異の意味を明らかにした。また、医学的には SERCA より重要ともいえるナトリウムポンプ  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase に関して、 $\beta$  サブユニットと調節蛋白質 FXYP を含むポンプ全体の高分解能構造を初めて決定した(図 2)。 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase は心不全に対し処方される強心配糖体の標的分子でもあるが、ウアバインとの複合体の構造を決定し、細胞外側表面に結合するという通説はまったくの誤りであることを証明した。さらに銅イオンポンプ CopA の NP ドメインと ATP 類似体との複合体の構造を決定し、Wilson 病の原因となる H462G 変異の意味を明らかにした。一方、高等動物培養細胞とアデノウイルスを用いた膜蛋白質大量生産系を開発し、対象の拡大に成功した。本研究によって「ポンプ蛋白質の構造は何故そうでなければならないのか」を理解するという目標に向けて大きく前進することができた。

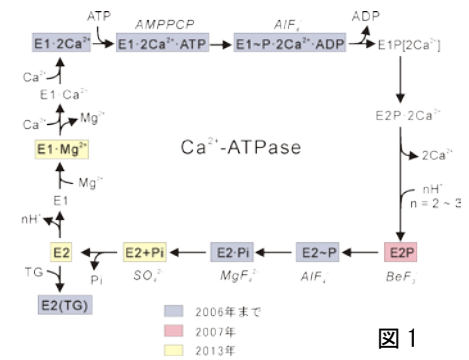


図 1

2. 研究期間終了後の効果・効用

・研究期間終了後の取組及び現状: SERCA1a に関しては 10 個の中間体の構造決定に成功し(図 1)、作動機構の大略を明らかにした。体温維持や肥満との関連でも注目されているサルコリピンとの複合体の構造決定に成功し、生理的調節機構を解明した。一方、大量発現系の確立によって研究対象が大幅に拡大した結果、SERCA1a の重要な変異体とともに、心筋のカルシウムポンプ SERCA2a の構造決定にも成功した。また、独自技術を開発して結晶中の脂質二重膜を可視化し、ポンプの構造変化における脂質二重膜の意義を明らかにできた。一方、 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase に関しては、 $\text{Na}^+$  結合状態の結晶構造の決定に成功し、 $\text{Na}^+$  を厳密に選択する精緻なメカニズムを明らかにできた。さらに、多数の強心配糖体との複合体の構造を決定し、組織特異的な薬剤開発への道を開いた。

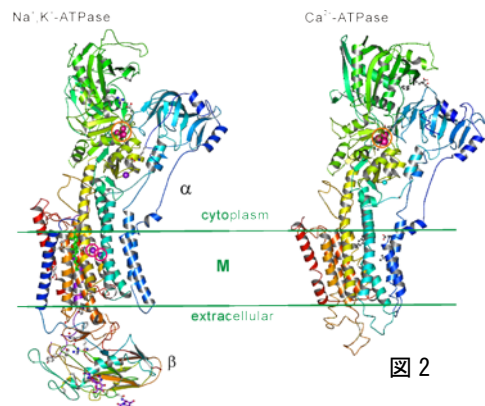


図 2

・波及効果: ポンプ蛋白質と磷脂質の相互作用の研究が活性化されたほか、SERCA を活性化する薬剤の探索や、癌細胞を攻撃するための薬剤への応用が研究されるようになった。多数の反応中間対原子モデルの提供の結果、計算機による大規模構造変化の研究が著しく促進された。