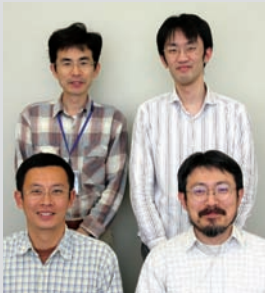


イオンチャンネル膜タンパク質の構造解析

結晶を用いない単粒子電顕解析法による3次元構造の解明



佐藤 主税 さとう ちから
研究グループ長 (写真: 前列右)
ti-sato@aist.go.jp

小椋 俊彦 おぐら としひこ
主任研究員 (後列左)

丸山 雄介 まるやま ゆうすけ
産総研特別研究員 (後列右)

以上、脳神経情報研究部門
構造生理研究グループ
(つくばセンター)

三尾 和弘 みおかすひろ
バイオメディカル情報研究
センター
タンパク質構造情報解析チーム
主任研究員 (前列左)
(臨海副都心センター)

私たちが単粒子解析のために必要とする分野は、生化学から始まり、電子顕微鏡学、画像情報学と多岐に渡り、典型的な学際領域です。さまざまな分野の専門家が集まり、第2と第6事業所に跨っています。産総研にはうってつけの研究だと思いますが、もう少し事業所間の垣根が低ければなあと常々感じております。

関連情報:

- 共同研究者

森 泰生研究室 (京都大学)、
藤吉 好則研究室 (京都大学)、
御子柴 克彦研究室 (東京大学・理化学研究所)、
竹島 浩研究室 (京都大学)、
久保 義弘研究室 (生理研)、
相馬 義郎先生 (慶応大学) ほか

- 参考文献

[1] C. Sato *et al.*: *Nature* 409, 1047-1051 (2001).

[2] K. Mio *et al.*: *J. Mol. Biol.*, 367, 373-383 (2007).

[3] K. Mio *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 283(44), 30300-30310 (2008).

[4] M. Yazawa *et al.*: *Nature* 448, 78-82 (2007).

[5] Y. Maruyama *et al.*: *J. Biol. Chem.*, 284(20), 13676-13685 (2009).

電子顕微鏡画像からの単粒子解析法

単粒子解析法はX線解析やNMRとは異なり、結晶を必要としない3次元構造決定法であり、結晶化が難しいタンパク質の構造解析に必須の手法となりつつあります。必要とされるタンパク質量は数 μg であり、私たちが開発してきた Neural Network や Simulated Annealing を用いた画像処理・画像分類法を使えばタンパク精製も完全である必要はありません。この方法により、結晶化が難しい6回膜貫通型(6TM)チャンネルなどのさまざまなタンパク構造を大学・研究所などと協力して解明してきました。

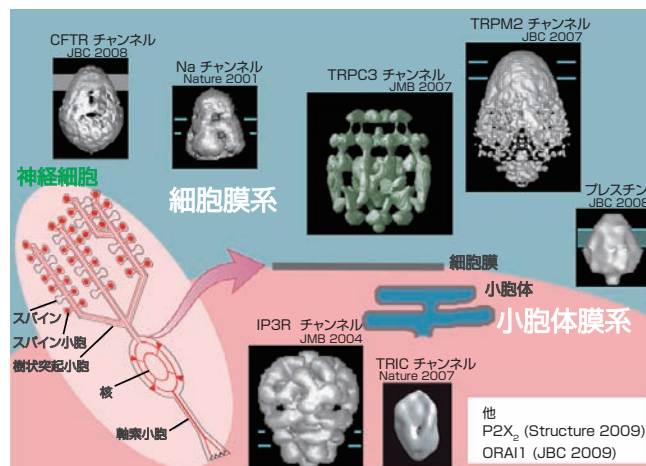
脳の情報を支配するイオンチャンネルの構造

私たちの解析は電圧感受性Naチャンネルから始まり^[1]、IP3受容体やTRPチャンネル^[2]、CFTRチャンネル^[3]などCa²⁺やCl⁻を透過させるさまざまなチャンネルの構造を解明しています。構造の共通点は、外殻と内核の2つの部分により構成されるベル型です(図)。ベルには横切る細胞膜近くで穴が開いており、膜の表面の電荷を利用したイオン選別機構が想像されます。中でも際立った構造は、細胞内のCa²⁺制御をはじめ、発生・分化・アポトーシス・味覚・温覚・聴覚など、さまざまなセンサーであるTRPチャンネル群です。TRPC3は活性化されるとIP3受容体も結合し活性を調節します。TRPC3を分解能1.5 nmで解析し、高さ24 nm幅20 nmの隙間だらけの膨れあがった構造を

解明しました。両チャンネルは似たサイズの構造で、1:1で結合するようです。TRPC3の膨れた構造は、さまざまな制御タンパク質の同時結合を可能にするためと思われます。膨れた構造は、酸化ストレスや温度の感知に重要なTRPM2でもまた見られました。私たちはさらに、K⁺を細胞内小胞へと透過し、Ca²⁺放出によって生じた小胞内の帯電を和らげるTRICチャンネルの構造を解明しました^[4]。このチャンネルは心筋細胞の拍動に必須で、心不全の薬のターゲットとして注目されています。そのサイズは3量体で99 kDaであり、単粒子解析法の世界最小記録となりました。また、痛みの伝達に重要なP2Xや免疫機構に必須なORAI^[5]などの膜貫通回数が異なる構造も解明しました。すべてのチャンネルが基本的に外殻と内核の2層構造をもつので、2層構造はこれらイオンチャンネルの機構に本質的なものかもしれません。また、Cl⁻を分子内に閉じ込めるプレスチンは、私たちの内耳で音を100倍程に増幅する20 kHzの高速モーターでポンプに分類されます。アスピリン難聴などさまざまな難聴と関わります。分子は砲弾型で、内部に振動子と思われるCl⁻を閉じ込める空洞をもっていました。

今後の展開

単粒子解析法は、結晶化が難しい超分子複合体や構造変化の解析への応用が広く期待されます。



グループが決定したイオンチャンネル関連膜タンパク質

単粒子解析は結晶化を必要としない電子顕微鏡と画像処理による解析であるため、膜タンパク質構造を決定する強力なツールである。CFTR (JBC 2008)、P2X₂ (Structure 2009) ほか。