

提出日：2019年5月16日

平成30年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	X線構造解析と分子シミュレーションの協同による電位依存性膜タンパク質の機能解明		
研究代表者	氏名	米澤康滋	
	所属機関名・部局名	近畿大学・先端技術総合研究所	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	中川敦史		
<p>電位依存性イオンチャネルは、筋収縮・神経伝達及び心臓拍動などに重要で精力的に機能解明の研究が続けられている。Kvチャネル構造の研究(2003年ノーベル化学賞マッキノン)から電位依存性イオンチャネルは電位センサー部分とイオンを通す小孔部分で形成された6回膜貫通型構造が4量体を成してイオン選択及びイオンゲート開閉を機能させる大変複雑な分子システムであるところまでは考えられてきた。VSOPは単量体で機能を持ち、膜電位変化を膜貫通セグメントS4が感知して静止状態と活性状態間の構造変化でプロトン通過を制御する事が実験的に示唆された(藤原, et al, Nature Comm.)。その後、大阪大学の中川グループによって始めてX線構造が解かれた。(竹下, et al, Nature Struc. Mol. Bio. 2014) VSOPは今までで最小の電位依存性イオンチャネルで、シンプルな構造を持ち、基本機能である電位依存的イオン選択性及びゲーティング機構の解明に理想的な日本発のモデルタンパク質として研究進展が期待されている。VSOPのS4ヘリックスには種に関わらず良く保存された3つのアルギニン残基(ARG)が、S1~S3ヘリックスのアスパラギン酸(ASP)やグルタミン酸(GLU)残基と特徴的塩橋ペア(各々4つから5つの塩橋ペア)を構成する可能性が実験から報告されている。</p> <p>VSOP中間構造に電気生理学実験等の測定情報を課した拘束バイアス型分子シミュレーションを適用して得られた構造群に対して、ヘリックス湾曲構造などの不自然構造を排除して、以下の指標を基に2種類合計で100程度の構造に絞り込んだ。オープン構造：内部に形成される水素結合パターンからプロトン透過性を示す構造、クローズド構造：内部にプロトン透過経路が無く、水分子透過の遮断性を示す構造。最終的に絞り込まれたオープン構造とクローズド構造を基にしてVSOPの膜プロトン輸送機構を詳しく調査した。その結果、S4ヘリックスの良く保存されたArg残基が規則正しく整列し効果的なプロトン移動経路を形成していると考えられるオープン構造候補を数例同定する事ができた。今回の分子シミュレーションで得られた構造を基に実験からどの塩基対がプロトン輸送に関わるか、S4等のドメインの動的な効果が解明され、さらにクローズド構造がどのような機構でプロトンを遮断しているかも解明できると期待される。</p>			