

## 原子構造から蛋白質の作動機構を理解しよう

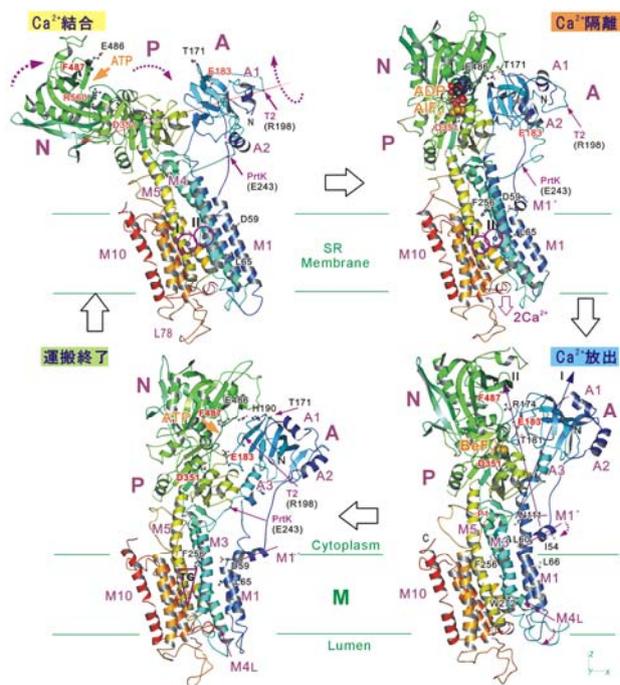
蛋白質は高次構造を変化させて機能しているのであるから、その理解には原子構造が必須である。蛋白質がどう構造を変化させ機能を実現しているのかを刻々と目で見たいというのは、生物学者の長年の夢であったが、我々の研究によって、膜蛋白質、特にイオンポンプは驚異的に大きな構造変化を起こすことがわかってきた。イオンポンプは生体膜中において、濃度勾配 ( $\text{Ca}^{2+}$ は細胞の内外で1万倍以上の濃度差を持つ) に逆らってイオンを輸送する (ポンプする) 蛋白質である。信号の伝達はチャネル蛋白質が孔を開き、拡散によってイオンが流れ込むことによって起こる。イオンが移動するわけだから、電流が流れ、電位差が変化する。これが、「興奮」とよばれる現象の実態であり、生命活動の基本と言ってよい。一方、平衡に達したイオンを元のように非平衡な、濃度差のある状態に戻さないと、生命活動は維持できない。それを行うのがイオンポンプ蛋白質であり、教科書には「ATP (アデノシン三リン酸) のエネルギーを使って、能動輸送を行う」と書いてある。しかし、「ATP のエネルギーを使う」というのは、実際はどういうことなのか。構造研究が進展するにつれて、反応を実際に動かしているのは熱エネルギーであり、温度 300 K を超える環境にいることが本質なのだということがわかってきた。また、カルシウムのポンプは、100 万倍多い  $\text{K}^+$ 、10 万倍多い  $\text{Na}^+$ 、1 万倍多い  $\text{Mg}^{2+}$ の中から、正しく  $\text{Ca}^{2+}$ を選別できる。これはどうやるのか。また、化学反応 (ATP の分解) が起こる場所とイオンの結合部位とは 50 Å 以上離れている。従って、遠隔操作の機構が必要なはずだが、それはどうなっているのか。カルシウムポンプは約 1000 個のアミノ酸残基からなる複雑且つ巨大な構造物である。その構造はどのようにしてそうでなければならないのか。こういう本質的疑問に取り組み始めて 20 年を超えるが、いまだに興奮することが多いというか、蛋白質があまりにもよく出来ていることに感嘆する結果が次々と得られている。イオンポンプは理想的に面白いのである！

そのような本質の理解のためには、結晶解析、分子動力学計算が主要な研究手段ではあるが、分子生物学からエレクトロニクスまでなんでもやろう、不足は欧米の研究室との積極的な協力によって補おうというのが我々の立場である。本質的に新しいことを知るには新技術の開発が不可欠であるし、高等動物膜蛋白質の遺伝子発現から大量生産、計算機シミュレーションまで学ぶことが出来る研究室は他にない。意欲的な学生の参加を期待している。

### 1. イオン能動輸送機構の構造的解明：

現在はイオンポンプによる能動輸送機構の解明、特に筋肉の  $\text{Ca}^{2+}$ ポンプ ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase)と、医学的にはより重要ともいえるナトリウム・カリウムポンプ ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase) の結晶解析 (*Nature* **459**, 446), その結果に基づいた分子動力学的研究に重点をおいている。

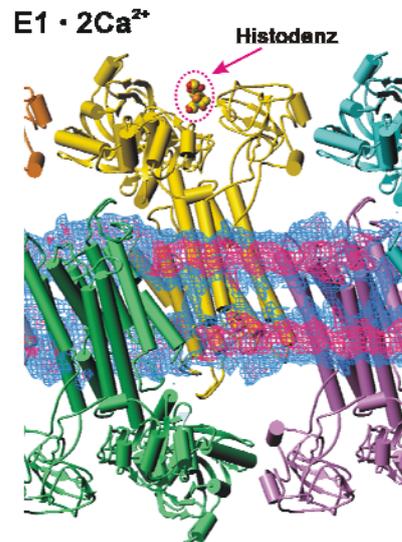
筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$ -ポンプは、筋収縮に伴って筋細胞中に放出された  $\text{Ca}^{2+}$  をカルシウムの貯蔵庫である筋小胞体に汲み上げ、筋肉を弛緩させるポンプである。X線結晶解析によって原子レベルの構造を明らかにできた (*Nature* **405**, 647; 表紙にもなった)。さらに反応サイクル全体をカバーする4つの基本状態すべての構造を決定し (*Nature* **418**, 605; **430**, 529; **432**, 361; *PNAS* **104**, 19831), 能動輸送機構の大略は理解できるようになったともいえる(図)。この結果、上に述べた本質的問題にアプローチできるようになった。一方、心臓の筋肉の収縮・弛緩に深く関わることから、薬剤による制御も重要な課題であり、研究を進めている。



それに比べると  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ポンプの研究は遅れている。このポンプは強心剤として有名なジギタリスの標的分子でもあるが、単なるポンプではなく、非常に複雑な調節を受け、多くの癌等にも深く関わるらしいことも判ってきた。デンマークグループと協力しながら、構造研究を進めている。

## 2. 脂質二重膜の可視化:

膜蛋白質は膜中にあることが本質的であり、イオン輸送に対しても脂質二重膜のさまざまな影響が指摘されている。しかし、我々の構造的理解はひどく浅い。実は、膜蛋白質とそれを取り巻く脂質二重膜が原子レベルで解像された例はないのである。だから、蛋白質の運動に伴って膜も一緒に動くのか、動くのならどの程度動くのかも分かっていない。この問題に取り組むためには技術開発が必要であったが、結晶中の脂質二重膜を可視化することができ(右図)、ここでもびっくりする結果が得られている。



## 3. 病原体の膜輸送体の構造決定を目指して:

どうせ蛋白質を発現しなければならないのなら、病原体の蛋白質を発現させて構造解析し、創薬にまで結び付け、人の役に立つサイエンスをしたい。高等動物の特に膜蛋白質は大腸菌などの下等な生物ではうまく生産できない場合がほとんどであるが、これも長期間にわたる努力の結果、高等動物培養細胞を使って(費用はかさむけれども)自由に大量生産できるようになったので、ここ数年で大きく進展するであろう。