

中川 敦史

大阪大学 蛋白質研究所  
教授

### 新規細胞膜電位シグナルの構造基盤の解明

#### § 1. 研究実施体制

(1)「中川」グループ(大阪大学)

- ① 研究代表者:中川 敦史 (大阪大学蛋白質研究所, 教授)
- ② 研究項目
  - ・ 電位依存性脱リン酸化酵素 VSP の各種変異体のX線結晶構造解析
  - ・ 電位依存性脱リン酸化酵素 VSP と基質複合体のX線結晶構造解析

(2)「岡村」グループ(大阪大学)

- ①主たる共同研究者:岡村 康司 (大阪大学大学院医学系研究科, 教授)
- ② 研究項目
  - ・ 実時間計測による電位センサータンパク質群の分子機構の解明
  - ・ 電位センサータンパク質群の動作機構に基づく膜電位プローブの構築

(3)「鷹野」グループ(広島市立大学)

- ①主たる共同研究者:鷹野 優 (広島市立大学大学院情報科学研究科, 教授)
- ② 研究項目
  - ・ 高効率な構造変化探索法の開発
  - ・ 長時間シミュレーションに耐える分子力場の開発
  - ・ 分子動力学シミュレーションによる Hv1/VSOP の構造安定性および構造変化の解析

(4)「神取」グループ(名古屋工業大学)

- ① 主たる共同研究者:神取 秀樹 (名古屋工業大学大学院工学研究科, 教授)
- ② 研究項目
  - ・ 全反射赤外分光法による構造機能相関解析

## § 2. 研究実施の概要

本研究では、VSP を中心とした新規電位センサータンパク質を対象として、膜電位センサーの基本動作原理の理解を目指すとともに、膜電位シグナルの多様性を生み出す構造基盤としての、タンパク質機能モジュール間の組み合わせとそのカップリング機構の解明を目指している。そのために、膜電位センサータンパク質の精密な原子構造を決定するとともに、計算科学と振動分光法を駆使して詳細な動的構造情報を理解する。さらにこれら静的・動的構造情報に基づいて機能解析を行うとともに、新しい機能を持った電気シグナル可視化分子ツールの開発とその利用による生体での「生の」膜電位の実態の理解へ繋げていく。

平成 27 年度は、電位依存性脱リン酸化酵素 VSP の X 線結晶構造解析を目指し、特に電位センサードメインと細胞質ドメインの間をつなぐリンカーの長さを変えた各種変異体の発現系の構築と試料調製・結晶化を進めた。また、膜電位に伴う細胞内領域の局所構造変化を高感度、高時間分解能で捕らえる手法の確立を確立し、膜電位の変化に伴う VSP の細胞質ドメインの構造変化を追うことに成功した(図1)。

Hv1/VSOP は、 $Zn^{2+}$  の濃度変化によって活性が制御されることが知られている。X 線結晶構造解析で、細胞膜外側の領域に  $Zn^{2+}$  が結合した静止状態(チャンネル閉状態)の構造が得られているが、活性化状態(チャンネル開状態)の構造は得られていない。そこで、計算機シミュレーションと赤外分光法(FT-IR)を組み合わせ、チャンネルの開閉を制御する重要なアミノ酸やペプチド骨格の構造変化をとらえ、Hv1/VSOP における亜鉛イオンによる活性制御機構の解明を目指した。平成 27 年度には、赤外分光法により  $Zn^{2+}$  の配位子であるヒスチジンとカルボン酸のプロトン化状態および配位構造を推定した。この結果は計算機シミュレーションの結果と良く一致した(図2)。

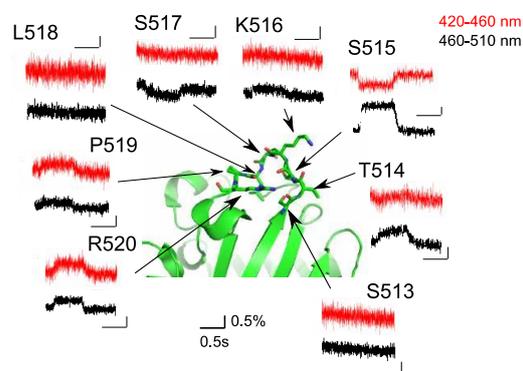


図1 VSP の C2ドメイン 515loop 領域の Anap の蛍光強度変化

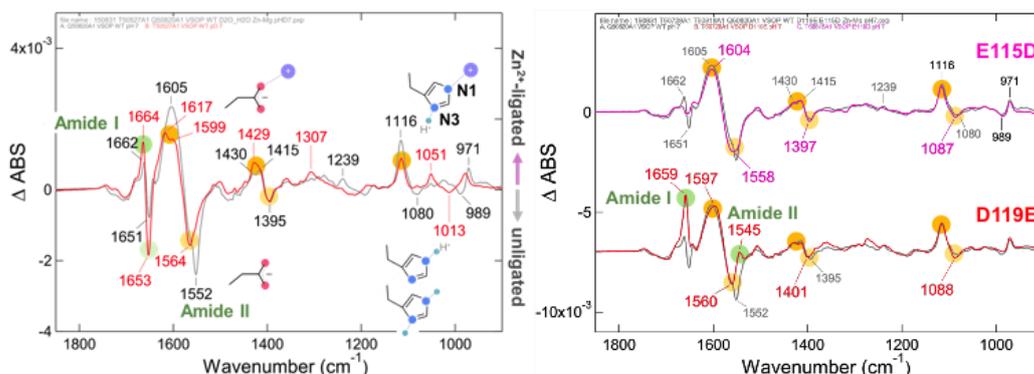


図2 Hv1/VSOP への  $Zn^{2+}$  結合による全反射赤外分光差スペクトル