

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－イスラエル研究交流）

1. 研究課題名：「神経伝達を司るトランスポーターの構造生物学的展開」
2. 研究期間：平成22年1月～平成25年3月
3. 支援額： 総額 14,500,000 円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	森山 芳則	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教授
研究者	表 弘志	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	准教授
研究者	宮地 孝明	岡山大学自然生命科学研究支援センター ゲノムプロテオーム解析部門	准教授
参加研究者 のべ			3名

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Nathan Nelson	テルアビブ大学ダニエル・リッチ研究所（構造生物学） 生命科学部生化学研究室	教授
研究者	Shani Leviatan	同上	大学院生 博士課程
研究者	Maya Antoshvili	同上	大学院生 博士課程
参加研究者 のべ			3名

5. 研究・交流の目的

神経は神経伝達物質を放出する事で、神経間の情報伝達を行っている。シナプス小胞に蓄積された神経伝達物質はシナプス間隙に放出され、レセプターに結合し、情報が次の神経へと伝達される。神経伝達物質トランスポーターは神経伝達物質のシナプス小胞への蓄積とシナプス間隙からの回収を担っている。これまでに神経伝達に必須な20種類以上の神経伝達物質トランスポーターが同定されている。しかし、これらのトランスポーターの構造・機能解析はよい大量発現・精製系が存在しなかったため、停滞していた。

そこで本研究は神経伝達物質トランスポーターの構造と機能解明のプラットフォームを構築することを目的とした。そのために、報告されている全ての神経伝達物質トランスポーターの大量発現系、輸送活性測定系を構築し、輸送機能と結晶構造を解明する。具体的には、イスラエル側の大腸菌でのほ乳類膜タンパク質の大量発現技術、結晶構造解析技術と日本側の輸送活性測定技術とを組み合わせる。本共同研究で日本-イスラエルが交流を通じて相互的に取り組むことで、神経伝達物質トランスポーターの構造と機能を解明することが可能となる。

## 6. 研究・交流の成果

### 6-1 研究の成果

- ・ ヒトの神経伝達物質トランスポーターの構造生物学的研究基盤を構築することができた (日本・イスラエル)

これまで機能を維持したヒトを含むほ乳類のトランスポーターの大量発現法、トランスポーター機能を解析する一般的な方法はなかったが、これらの問題点を克服し、神経伝達物質トランスポーターのタンパク質バンクを計41種類作成した。研究計画当初よりも多くのトランスポーターバンクを作製することができた。本研究成果は *J. Biol. Chem.*誌に掲載され、Faculty of 1000 (新しい論文評価システム) にて **Recommended** と高く評価された。

- ・ トランスポーターバンクを利用して、主に以下の成果を得た。

#### 1) 神経伝達物質トランスポーターの機能解析 (日本)

これまでよいトランスポーターの機能解析法がなかったため、多くの神経伝達物質トランスポーターは未だ機能がわかっていない。我々はトランスポーターバンクの中から、複数の新規神経伝達物質トランスポーターを同定し、脳研究の推進に貢献した。

小胞型興奮性神経伝達物質トランスポーター群の新しい制御機構を解明し、難治性てんかん (これまで治療法のなかったもの) の有効な創薬ターゲットを提供することができた。本研究成果は *Neuron* 誌に掲載され、その *Commentary*、*Science Signaling* の *Editor's Choice* に選ばれた。Faculty of 1000 にて **Must Read** と高く評価された。

小胞型ヌクレオチドトランスポーターが金属イオントランスポーターとしての側面を実証し、ヌクレオチドと金属イオン輸送に必須なアミノ酸残基を複数同定した。本研究成果は *J. Biol. Chem.*誌に掲載され、Faculty of 1000 にて **Recommended** と高く評価された。

神経伝達物質トランスポーターファミリーのうち、腎臓や小腸にて尿酸を排出するトランスポーターを含むことを見出した。これらトランスポーターの機能異常は痛風などを発症するリスクファクターとなることを明らかにした。本研究成果は *J. Biol. Chem.*誌、*Am. J. Physiol.*誌に掲載され、Faculty of 1000 にて **Recommended** と高く評価された。

#### 2) 神経伝達物質トランスポーターの構造解析 (イスラエル)

ヒト・トランスポーターの精製と結晶化に成功したが、高解像度での結晶構造解析には至っていない。日本グループにて本研究のノウハウを用いて、細菌の神経伝達物質トランスポーターホモログの結晶化を行ったところ、2.7 Åでの結晶構造解析に成功した。これにより、構造生物学的な研究展開および創薬開発への応用が可能となった。本研究のノウハウは結晶構造解析に有効であることを実証することができた。

以上、ヒトの神経伝達物質トランスポーターの構造生物学的研究基盤を構築することで、独創的な研究アプローチにより、上記の研究成果を得ることができた。さらに、あらゆる生物種に適用可能であった。トランスポーターの大量利用による低コスト・高効率の普遍的なスクリーニングシステムを構築することで本研究成果を社会にフィードバックすることができる。

## 6-2 人的交流の成果

- Nathan Nelson は二度、日本を訪れ、第84回日本生化学会大会でのシンポジウム講演、岡山大学での特別講演、研究室内の職員・学生との討論ならびにセミナー、研究経過の情報交換を行った。これにより、研究成果の発信や人的交流および技術的交流を深めることができた。
- Maya Antoshvili (イスラエル、大学院生) は日本を訪れ、トランスポーターの機能解析方法を習得した。また、研究室内の職員・学生との討論ならびにセミナーを行った。これにより、技術的交流のみならず、学生間も含め人的交流を図ることができた。
- 森山芳則は学部長に就任したため、日程調整が難しくなり、期間中のイスラエルの訪問を断念したが、来年度、イスラエルを訪れる予定である。
- 以上の交流は本研究分野の研究者の育成の観点からみて、重要な機会であり、本研究支援をもってして成し得たものである。
- Nathan Nelson と森山芳則の間で今後も共同研究を行うことで合意した。
- 各研究者間での連絡も E-Mail 等を利用して行っており、研究交流が増加し、持続的に継続することができる体制を構築した。

## 7. 主な論文発表・特許等 (5件以内)

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Leviatan S, Sawada K, Moriyama Y, Nelson N. A combinatorial method for overexpression of membrane proteins in <i>E. coli</i> . <i>J. Biol. Chem.</i> 285: 23548–23556. (2010)	共著
論文	Juge N, Omote H, Gray JA, Miyaji T, Inoue T, Hara C, Uneyama H, Edwards RH, Nicoll RA, Moriyama Y. Metabolic Control of Vesicular Glutamate Transport and Release. <i>Neuron.</i> 68: 99–112. (2010)	
論文	Iharada M, Miyaji T, Fujimoto T, Hiasa M, Anzai N, Omote H, and Moriyama Y. Type 1 sodium dependent phosphate transporter (SLC17A1 protein) is a Cl <sup>-</sup> -dependent urate exporter. <i>J. Biol. Chem.</i> 285: 26107–26113. (2010)	
論文	Miyaji T, Sawada K, Omote H, Moriyama Y. Divalent cation transport by vesicular nucleotide transporter. <i>J. Biol. Chem.</i> 286: 42881–42887. (2011)	
論文	Togawa N, Miyaji T, Izawa S, Omote H, Moriyama Y. A Na <sup>+</sup> /phosphate co-transporter homologue (SLC17A4 protein) is an intestinal organic anion exporter. <i>Am J Physiol Cell Physiol.</i> 302: C1652–60. (2012)	