

1. 研究課題名：膜を介する（チャネルおよびGPCRを中心とした）情報伝達の分子機構研究

2. 研究期間：平成16年度～平成20年度

3. 研究代表者：藤吉 好則（京都大学・大学院理学研究科・教授）

4. 研究代表者からの報告

（1）研究課題の目的及び意義

膜蛋白質を中心とする情報伝達と制御の分子機構を構造の視点から理解することを目的として、1) 水チャネルの構造と機能、活性制御、そして高次機能の研究、2) イオンチャネルの構造と機能解析および局在化機構等による高次機能の解析、3) G蛋白質共役型受容体（GPCR）等の構造と機能解析の3つの研究課題を遂行する。3つの構造研究課題において当面の中心をなす具体的な分子の例は、1) については、脳での存在が確認されているアクアポリン-4（AQP4）で、2) については、ギャップ結合やNa⁺チャネル、IP3受容体で、3) は、ヒトエンドセリン受容体B型（ETBR）について、リガンドET-1が結合した状態を中心に研究する。

これまで、構造研究の対象にできなかった哺乳動物などの膜蛋白質について、組み換え遺伝子の発現技術と、電子線結晶学、単粒子解析、解剖学、電子線トモグラフィ等的手法による構造解析技術と、各種光学顕微鏡法、さらには、電気生理や遺伝子改変マウス技術等を駆使することによって、神経細胞を中心とする情報伝達の分子機構解明を目的とする。

この様な研究により、神経細胞などにおける情報伝達と制御機構を分子レベルから詳細に理解できるようになることが期待され、構造解析なしでは明らかにできなかった膜蛋白質の機能の理解が深まることが期待される。

（2）研究の進展状況及び成果の概要

上記、膜蛋白質を中心とする情報伝達と制御の分子機構を構造の視点から理解することを目的として、総合的に進めている。特に、1) 脳での存在が確認されているAQP4の発現系を確立し、2次元結晶化に成功した。この結晶は2枚の膜がズレを含んで重なった2次元結晶で構造解析が非常に困難な結晶であったが、カーボンサンドウィッチ法を開発すると共に、独自に開発した極低温電子顕微鏡を駆使することによって、その構造解析に成功して、チャネルでありながら細胞接着性を有する構造と機能を解明した。また、AQP4分子が星状膠細胞終末足に結晶状の構造体を形成している機構についてさらに研究を進めた結果、N末端側に存在するシステイン残基により結晶状構造が制御されていることが明らかになった。さらに、接着性を有するAQP0を1.9Å分解能で解析し、水分子と脂質分子と共に詳細な構造を解明した（Natureの表紙）。2) については、ギャップ結合の構造解析から教科書を書き換える新しいゲーティング機構を提案した（PNASに発表）。IP3受容体とTRPC3の両方の構造を氷包埋の単粒子解析法で解析した。また、海馬の神経細胞などで細胞接着性を有するイオンチャネルを発見し、構造と機能解析を進めている。3) については、ETBRなどを昆虫細胞SF+を用いて発現精製する系を確立して全力で研究を進めているが、結晶化についてはいまだ大きな前進は得られていない。

5. 審査部会における所見

A（現行のまま推進すればよい）

膜タンパク質を中心とする情報伝達とその制御を構造の視点から理解することを目的として、水チャネル、イオンチャネル、GPCRを中心に研究が順調に展開しているが、アクアポリンの解析は特にめざましく進展している。独自開発の極低温電子顕微鏡を駆使することによってアクアポリン-4（AQP4）が水チャネルでありながら細胞接着活性を有することを明らかにし、接着機能を有するチャネルという新しい概念を提案したことは特筆すべき成果である。またAQP0の構造解析においては、新たな試料作製技術（カーボンサンドウィッチ法）によって1.9Åという驚くべき分解能で水分子や脂質分子を同時に解析することに成功し、これは世界に誇れる最先端の技術である。一方ギャップ結合チャネルのgating機構としてこれまでのモデルを覆す新たなPlug gating modelを提案したが、これはギャップ結合を形成するコネキシン26のN末端がプラグの役割をしてチャネル内の貫通部位まで入ってふたをするというモデルであり、イオンに対して開閉機能を持つとともに、大きなペプチドをも透過できるという現象を矛盾なく説明でき、重要かつ歴史的な成果であると評価した。一方ヒトエンドセリン受容体B型をはじめとするGPCRの結晶化については技術的な困難もあり、もう少し時間を要するものと思われる。独自の技術を基盤にして、膜タンパク質を中心とする情報伝達に関する研究をこのまま推進することにより、今後さらなる研究の発展が期待できると判断した。