

令和 6 年 4 月 3 日現在

機関番号：10107
 研究種目：基盤研究(C)（一般）
 研究期間：2020～2023
 課題番号：20K06534
 研究課題名（和文）カルシウムポンプとフリッパーゼ；触媒部位から輸送部位への構造変化の伝達機構

研究課題名（英文）Ca-pump and Flippase; transmitting structural changes from catalytic site to transport site

研究代表者
 大保 貴嗣 (Daiho, Takashi)
 旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90207267
 交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：CaポンプのEP異性化/Ca輸送では、細胞質側のAドメインが大きく回転して配置を変え、構造変化が遠く離れた輸送部位に伝達されCa放出する。Aドメインの特異的部位を蛍光ラベルして一分子蛍光観察し、EP分解過程でその動きをライブ検知し、E2PCa2相当の状態を経由することを示した。CaポンプM4のArg324側鎖が脂質頭部と反応段階に応じて結合相手を変える。この結合がEP異性化に重要な役割を持つ多機能性を示した。フリッパーゼの類似酵素ATP13A2のクライオ電顕により中間体の原子構造を解明し、E2P加水分解・Pi遊離に伴うポリアミン結合と輸送の構造変化、部位特異的変異から輸送機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CaポンプのEP異性化/Ca輸送；Ca2E1P Ca2E2P E2Pでは、Aドメインが駆動する細胞質領域の配置変化が伝達されCa放出する。Ca2E2Pの存在は未実証であった。Aドメインを蛍光ラベルし、その動きの観察から野生型CaポンプのEP異性化でCa2E2P状態をライブ検知した。CaポンプのArg324側鎖が反応段階に応じて脂質頭部と結合し、EP異性化に重要な役割を持つことを示した。ポリアミンを輸送するATP13A2はパーキンソン病の原因遺伝子PARK9である。輸送サイクルの各中間体のクライオ電顕構造を解明し、輸送機構を明らかにした。上記疾患の遺伝的な原因と治療法の探求に貢献する。

研究成果の概要（英文）：In the EP isomerization / Ca transport of the Ca pump, the A domain on the cytoplasmic side rotates greatly and changes its arrangement, and the structural changes are transmitted to the transport site far away and Ca is released. The specific site of the A domain was fluorescently labeled and observed by a single molecule fluorescence, and its movement was live detected during the EP degradation process, indicating that it passes through a state equivalent to E2PCa2. The Arg324 side chain of the Ca pump M4 changes the binding partner according to the lipid head and reaction stage. This binding has shown multifunctionality that plays an important role in EP isomerization.

We elucidated the atomic structure of the intermediate by cryoelectron microscopy of the enzyme ATP13A2 similar to flippase, and clarified the transport mechanism from the structural changes in polyamine binding and transport associated with E2P hydrolysis and Pi release, as well as site-specific mutations.

研究分野：生化学

キーワード：Caポンプ リン酸化中間体 クライオ電子顕微鏡 エネルギー共役 一分子蛍光観察 ポリアミン パーキンソン病 脂質

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Caポンプを代表とするP型カチオンポンプはATPの加水分解に共役してカチオンを輸送する(図1)。このファミリーは他にもNa⁺,K⁺ポンプ、H⁺,K⁺ポンプ、フリッパーゼ、ポリアミン輸送体などを含み、細胞質ドメインにATP分解のための触媒部位、膜貫通ドメインにカチオンなどの輸送部位をもつ。生化学的研究と中間体(アナログ)の結晶構造解析により、Caポンプ輸送反応サイクルにおいて、3種の細胞質ドメイン、即ちA(駆動)、P(リン酸化)、N(ヌクレオチド結合)の配置変化と、カチオン結合・輸送にともなう膜貫通ドメインのヘリックスの配置変化が相互応答して起こる。しかし、それら両ドメイン間の構造変化伝達によるエネルギー共役の仕組み、具体的にどのような構造因子が如何に構造変化を伝達して輸送反応を進行するかは不明であった。特に、Ca輸送の鍵となるリン酸化中間体(EP)異性化/Ca輸送は(Ca₂E1P→Ca₂E2P→E2P+2Ca²⁺) (図2)と考えられてきたが、このうちCa₂E2Pはその存在が予想されただけの中間体であり、実証はなかった。この過程では細胞質側のAドメインが大きく位置を変え(引用文献①-②)ることが引き金となり、膜貫通ドメインへの構造変化を伝達してCa放出させると考えられる。かねてより筆者は、細胞質ドメイン間、およびAドメインとM1、M2をつなぐループとM1、M2それぞれのエネルギー共役の仕組み、それらのはたらきを部位特異的変異導入と速度論的解析を用いて各反応段階に重要な構造因子を同定してきた(引用文献③-⑨)。筆者はこれらの研究の過程で、AドメインとM1をつなぐループが適切な長さであることが内腔側Ca-gateを開いてCa放出に必須であることを示した(引用文献④-⑥)。そして、このループを伸長することによりCa₂E2Pを単離することに世界で初めて成功した(引用文献⑤)。これにより細胞質ドメインのEP異性化と膜貫通ドメインでのCa輸送が分離可能となり、それらが順次段階的に起こることが分かった。すなわち、EP異性化でAドメインがPドメインに結合すると、このループに張力が発生し、Pドメインを傾ける。これはPドメインに繋がるヘリックスの配置を変え、Ca輸送部位周辺の構造を変え、Ca放出を引き起こすと予想した。このCa₂E2Pが実在し、その原子構造と性質が明らかになれば、EP異性化/Ca輸送で起こる構造変化の伝達は格段に鮮明になる。しかも野生型Caポンプで生理的条件でのEP異性化/Ca輸送においてCa₂E2P状態を経由するか否かは全く不明であった。また、生きたCaポンプを用いて、実際にAドメインの動きをリアルタイムで検知した報告はない。そこで本研究ではこのモニタリングを一分子蛍光観察により施行した。

M4のArg324側鎖が脂質ヘッドグループと相互作用し、Caポンプ反応サイクルの特異的段階において相互作用相手を交換することが結晶構造から知られていたが、輸送機構における意味は不明であった。最近、Caポンプを不可逆的な失活をさせないで界面活性剤C12E8で可溶化、精製し、特定の脂質とともにnanodiscに再構成する方法を筆者らの技術開発で可能とした(引用文献⑩)。これにより、Caポンプを取り囲むnanodisc中での脂質環境を目的に応じて変えることができる。本研究ではこれを利用して、Arg324側鎖が脂質ヘッドグループと相互作用する意義について酵素反応速度論の上から明らかにする。この技術と方法は他のP型ATPaseだけでなく、広い範囲の膜タンパク質に応用可能と予想される。

フリッパーゼは特異的脂質を膜の内側から外側の層へ輸送して細胞膜などで脂質構成の非対称性に寄与する。筆者らはその反応サイクルに関する研究を進めている。本研究では、そのファミリーに属する類似ポンプとして、ポリアミン輸送ATPaseのATP13A2に着目した。その理由として、ATP13A2の反応サイクル、各中間体の原子構造も未解明であり、また大きな輸送基質であるポリアミンの認識機構や輸送機構も全く不明であったこと。さらにATP13A2はパーキンソン病の原因遺伝子として同定されたPARK9であり、その解明が遺伝的な原因探求と治療法の確立に大きく貢献すると考えられることである。

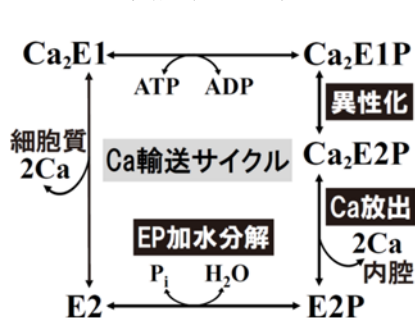


図 1

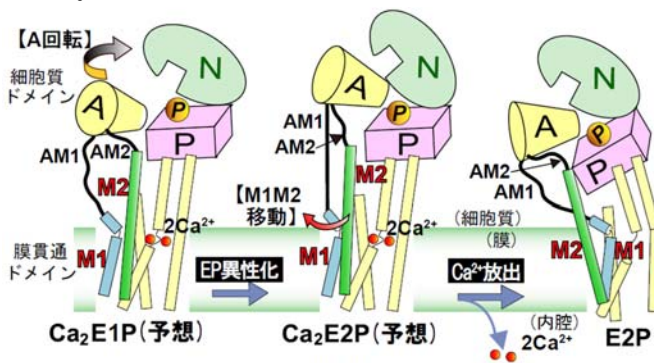


図 2

2. 研究の目的

以下の3つを目的とする。

①Caポンプの輸送反応サイクルにおいて、とくにEP異性化/Ca輸送では、Aドメインが大きく回転することにより細胞質ドメインが配置を変え、これが膜貫通ドメインに伝達されてCa放出の構造変化がおけると予想される。EP異性化/Ca輸送の共役メカニズム解明で鍵となる中間体はCa₂E2Pである。そこでAドメインの動きの3次元的な角度変化を検知し、EP異性化/Ca輸送でE2PCa₂に相当する状態を経由するか否かを調べる。

②CaポンプのM4にあるArg324側鎖が脂質ヘッドグループと相互作用し、反応段階に応じて

相互作用相手を変える。そこで、Caポンプ反応サイクルの特異的段階において Arg324 が相互作用相手を交換することが、Ca輸送反応サイクルでどのような意義を持つか調べる。

③フリッパーゼでは E2P の加水分解段階で脂質を輸送する。そこで本研究ではフリッパーゼの類似酵素として、まだ原子構造解析の行われていないポリアミン輸送 ATPase の ATP13A2 の反応中間体の原子構造をクライオ電子顕微鏡により明らかにして、ポリアミンの認識機構や輸送機構を明らかにする。

3. 研究の方法

デフォーカス配向イメージングによる単一 Ca ポンプ分子の A ドメインの角度変化検出

A ドメイン上に蛍光色素 ReAsH で一定の配向性で標識された単一の Ca ポンプ分子をナノディスクに埋め込み、Ni-NTA ガラス上に固定する。Ca を加えた Ca₂E1 状態、およびリン酸アナログの BeF で E2P アナログに固定した状態を固定しデフォーカスイメージングシステムにて蛍光角度変化を測定し、結晶構造と比較して測定の妥当性を得る。次に、ATP と Ca を加えて EP 形成させ角度変化をその EP 分解過程において、蛍光色素の角度変化を蛍光観察して 1 分子でモニターする。高感度 EM-CCD カメラを用いたデフォーカスイメージングシステムを用いる。

膜脂質と Ca ポンプの相互作用変化の意味を解明

Ca ポンプを種々のリン脂質と共に nanodisc に組み込むことができる。この系を用い、nanodisc に組み込むリン脂質の種類を変えて(POPC、POPE、POPS、または POPG)、Ca ポンプの特異的残基と膜脂質ヘッドグループの相互作用の静電的および疎水的相互作用の効果についてポンプ機能を速度論的に調べる。野生型 (WT)、R324A、R324E、Y122F) を COS-1 細胞にて発現させ、ミクロソーム画分を調製し解析に使用した。

クライオ電子顕微鏡によるヒト ATP13A2 によるポリアミン輸送機構を解明

ヒト由来の ATP13A2 を対象として、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析を行った。輸送サイクルにおける構造変化、および輸送基質の認識機構を明らかにするために、種々の阻害剤、および基質であるスペルミンを加えた状態で単粒子構造解析を行い、最終的に 4 つの反応中間体の構造を明らかにした。さらに、得られた構造から明らかになったポリアミン結合に関わるアミノ酸残基に対して、部位特異的変異を導入して ATP13A2 のスペルミン依存的な ATPase 活性に与える影響を評価することで、これらのアミノ酸のスペルミン輸送における役割を評価した。これらの結果から、ATP13A2 の持つ独自の輸送機構に関して考察を行った。

4. 研究成果

デフォーカス配向イメージングによる単一 Ca ポンプ分子の A ドメインの角度変化検出

A ドメインの特異的部位に蛍光色素 ReAsH をラベルした Ca ポンプを nanodisc に埋め込み、His-tag を介して Ni-NTA でコートしたガラスに固定し、一分子蛍光観察を行った(引用文献 ⑪)。Ca₂E1 と E2P 中間体アナログ E2BeF の角度差を測定すると、結晶構造から推察される角度差に相当する 74±35 度 (n = 59) の角度変化が得られた。これより測定の妥当性を得たため、この方法を用いてさらに ATP と Ca₂+を加えて EP を形成させ、EP 異性化を含む Ca ポンプのサイクルを回している状態で、ATP 濃度や Ca₂+濃度に依存した角度変化の検出を試みた。測定された Ca ポンプの A ドメインの角度変化は結晶構造の Ca₂E1P から E2P 状態に進む際に予想されるものに近いオーダーであった。すなわち、ATP と Ca₂+が存在する条件下で、角度分布は 2 つの dwell state を含む角度変化(角度差は約 60°)であり、Ca₂E1P から E2P への異性化を含む過程を捉えることができた。さらに分解能を上げると、蛍光角度分布が 2 つの状態を迅速にかつ頻繁に行き来する様子が捉えられた。これにより酵素が生きてターンオーバーしている状態で、A ドメインの角度変化を世界で初めてライブ観察で捉えた。その結果、EP 異性化ではまず A ドメインが動くことを明らかにした。2 つの dwell state のうち E2P 相当のものは、生化学的実験で捉えられていた Ca₂E2P 状態の可能性が高い。筆者は部位特異的変異によって Ca₂E2P 状態を固定単離したが、本研究により、野生型の Ca ポンプがこの Ca₂E2P に相当する状態を一分子で実際に經由することが示された。まず細胞質ドメインの配置変化が起こって、それが Ca 輸送部位に伝達されて膜貫通ドメインの構造変化が起こってエネルギー共役するということが示された。その伝達に A ドメイン/M1-linker、A ドメイン/M2-linker、および M2 の構造変化が重要であることを示した。さらにその鍵となる中間状態 Ca₂E2P の存在を示すことで、Ca ポンプのエネルギー共役機構をより具体的に明確にすることができた。

本研究で、単一蛍光色素の 3 次元角度測定の精度・確度が評価されたことにより、今後さまざまなサンプルに対しデフォーカスイメージング法が適用され、ドメイン構造、配置変化などをライブモニターできると期待する。

膜脂質と Ca ポンプの相互作用変化の意味を解明

COS-1 から得られたミクロソームを用いた解析では、変異体 Ca ポンプの細胞質側の Ca₂+に対する親和性はすべて WT と同等であった(引用文献 ⑫)。しかしながら E1Ca₂ からの Ca₂+遊離速度は Arg324-Tyr122 間の水素結合が形成されない R324A 及び Y122F では、水素結合を保持している WT 及び R324E と比べ遅くなっていた。また E2 からの E1 への転換ステップは WT と Y122F では同等であったが R324A ではそれより速くなり、R324E ではさらに速くなっていた。

次に EP 転換ステップにおける Arg324-リン脂質間の静電的相互作用の寄与を、速度 vs 活量係

数 plot[2]の傾きから定量化した。Arg-リン酸基の静電的相互作用がこのステップに促進的に働くとするれば、このプロットの傾きは WT>R324A>R324E の順になることが期待されるが、ミクロソームでは WT>R324E>R324A となり一致しなかった。これに対し酸性リン脂質 (PS, PG) を用いた時、WT>R324A>R324E の順になり予測される順番と一致した。また中性リン脂質 (PC, PE) では R324A>R324E の順で、WT は R324A と R324E の間に入った。このように単独リン脂質環境ではミクロソームの結果を再現することはできなかったが、3種のリン脂質 (PC, PE, PS) を SRV の組成を参考に混ぜた場合にミクロソームの結果が再現された。

今回 Arg324-Tyr122 間の水素結合は E1 から E1Ca2 が形成する過程を促進し、Arg324-リン脂質間のリンクは EP 異性化ステップに重要な役割を持つという Arg324 の多機能性を示ることができた。また Ca ポンプがミクロソーム中にあるときに、Arg324-リン脂質間リンクが EP 転換ステップに及ぼす影響の静電的性質は、単一脂質環境では再現することができず、3種のリン脂質混合環境で初めて再現された。この結果は生理的条件下では Arg324 は複数種類のリン脂質と相互作用の形成、消失を EP 転換ステップで起こしていることを示唆している。膜タンパクである Ca ポンプの活性は脂質環境の影響を受ける。今回の結果は、Ca ポンプに対する脂質環境の影響を解析する際、脂質の種類だけでなく、脂質組成について考慮することの重要性を示している。

クライオ電子顕微鏡によるヒト ATP13A2 によるポリアミン輸送機構を解明

細胞質ポリアミンは、有毒な金属カチオンをキレート化し、転写活性を調節し、DNA を保護することにより、細胞の恒常性を維持する。ATP13A2 は、細胞質へのポリアミン輸送に関与するリソソームポリアミン輸送物質として同定され、その機能不全はアルツハイマー病やその他の神経分解疾患に関連している。ATP13A2 P 型 ATPase ファミリーの P5 サブファミリーに属しているが、その中間体構造や輸送メカニズムは不明であった。本研究では、ヒト ATP13A2 のクライオ電子顕微鏡構造を 4 つの異なる条件下で解明し、ポリアミン結合と脱リン酸化に関連する構造的観点、部位特異的変異の結果から輸送機構を明らかにした (引用文献 ①)。ポリアミンは管腔トンネルで結合し、多数の静電および π カチオン相互作用によって認識され、その幅広い特異性を説明できた。ATP13A2 固有の N 末端ドメインが脂質膜に固定され、E2P のコンフォメーションが安定化し、E1P から E2P への移行が加速される。ポリアミンの輸送は、E2P に形成された結合ポケットにポリアミンが結合し、E2P 加水分解後、ポリアミンと無機リン酸が細胞質側に放出されることが明らかになった (図 3)。これらの知見は、P5-ATPase の明確なメカニズムを明らかにし、ATP13A2 活性化による神経保護療法への道を開くと期待される。ATP13A2 はパーキンソン病の原因遺伝子として同定された PARK9 である。その反応機構の解明はパーキンソン病の遺伝的な原因探求と治療法の確立に貢献すると考えられる。

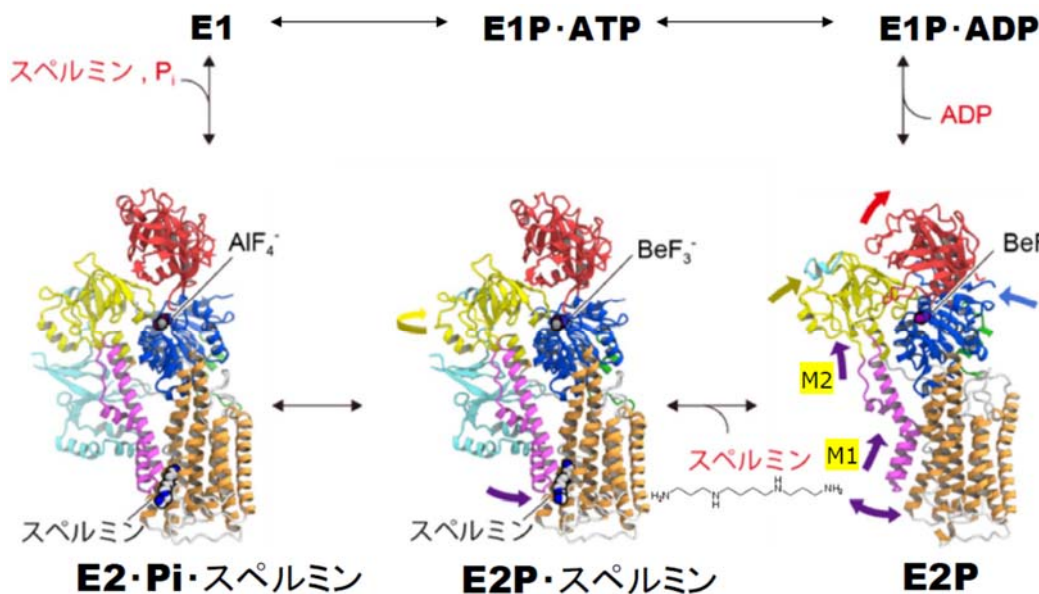


図 3

<引用文献>

- ① Danko S, Daiho T, Yamasaki K, Kamidochi M, Suzuki H, Toyoshima C. ADP-insensitive phosphoenzyme intermediate of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase has a compact conformation resistant to proteinase K, V8 protease and trypsin. FEBS Lett. 2001 Feb 2;489(2-3):277-82. doi: 10.1016/s0014-5793(01)02111-1. (査読有り)
- ② Danko S, Yamasaki K, Daiho T, Suzuki H, Toyoshima C.

Organization of cytoplasmic domains of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in E(1)P and E(1)ATP states: a limited proteolysis study.

FEBS Lett. 2001 Sep 7;505(1):129-35. doi: 10.1016/s0014-5793(01)02801-0. (査読有り)

③ Daiho T, Yamasaki K, Saino T, Kamidochi M, Satoh K, Iizuka H, Suzuki H.

Mutations of either or both Cys876 and Cys888 residues of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase result in a complete loss of Ca²⁺ transport activity without a loss of Ca²⁺-dependent ATPase activity. Role of the CYS876-CYS888 disulfide bond.

J Biol Chem. 2001 Aug 31;276(35):32771-8. doi: 10.1074/jbc.M101229200. (査読有り)

④ Daiho T, Yamasaki K, Wang G, Danko S, Iizuka H, Suzuki H.

Deletions of any single residues in Glu40-Ser48 loop connecting a domain and the first transmembrane helix of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase result in almost complete inhibition of conformational transition and hydrolysis of phosphoenzyme intermediate.

J. Biol. Chem. 2003 Oct 3;278(40):39197-204. doi: 10.1074/jbc.M305200200. (査読有り)

⑤ Daiho T, Yamasaki K, Danko S, Suzuki H.

Critical role of Glu40-Ser48 loop linking actuator domain and first transmembrane helix of Ca²⁺-ATPase in Ca²⁺ deocclusion and release from ADP-insensitive phosphoenzyme.

J. Biol. Chem. 2007 Nov 23;282(47):34429-47. doi: 10.1074/jbc.M707665200. (査読有り)

⑥ Daiho T, Danko S, Yamasaki K, Suzuki H.

Stable structural analog of Ca²⁺-ATPase ADP-insensitive phosphoenzyme with occluded Ca²⁺ formed by elongation of A-domain/M1'-linker and beryllium fluoride binding.

J. Biol. Chem. 2010 Aug 6;285(32):24538-47. doi: 10.1074/jbc.M110.144535. (査読有り)

⑦ Daiho T, Yamasaki K, Danko S, Suzuki H.

Second transmembrane helix (M2) and long range coupling in Ca²⁺-ATPase.

J. Biol. Chem. 2014 Nov 7;289(45):31241-52. doi: 10.1074/jbc.M114.584086. (査読有り)

⑧ Daiho T, Yamasaki K, Danko S, Suzuki H.

Glycine 105 as Pivot for a Critical Knee-like Joint between Cytoplasmic and Transmembrane Segments of the Second Transmembrane Helix in Ca²⁺-ATPase.

J. Biol. Chem. 2016 Vol.291,24688-24701. doi: 10.1074/jbc.M116.759704. (査読有り)

⑨ Kato S, Kamidochi M, Daiho T, Yamasaki K, Gouli W, Suzuki H.

Val200 residue in Lys189-Lys205 outermost loop on the A domain of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase is critical for rapid processing of phosphoenzyme intermediate after loss of ADP sensitivity.

J. Biol. Chem. 2003 Mar 14;278(11):9624-9. doi: 10.1074/jbc.M208861200. (査読有り)

⑩ Yamasaki K, Daiho T, Danko S, Yasuda S, Suzuki H.

Nanodisc-based kinetic assays reveal distinct effects of phospholipid headgroups on the phosphoenzyme transition of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase.

J Biol Chem. 2017 Dec 8;292(49):20218-20227. doi: 10.1074/jbc.M117.816702. (査読有り)

⑪ Katoh TA, Daiho T, Yamasaki K, Danko S, Fujimura S, Suzuki H.

Angle change of the A-domain in a single SERCA1a molecule detected by defocused orientation imaging.

Sci Rep. 2021 Jul 1;11(1):13672. doi: 10.1038/s41598-021-92986-3. (査読有り)

⑫ Yamasaki K, Daiho T, Yasuda S, Danko S, Kawabe JI, Suzuki H.

Electrostatic interactions between single arginine and phospholipids modulate physiological properties of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase.

Sci. Rep. 2022 Jul 16;12(1):12200. doi: 10.1038/s41598-022-16091-9. (査読有り)

⑬ Tomita A, Daiho T, Kusakizako T, Yamashita K, Ogasawara S, Murata T, Nishizawa T, Nureki O.

Membrane Perturbation of ADP-insensitive Phosphoenzyme of Ca²⁺-ATPase Modifies Gathering of Transmembrane Helix M2 with Cytoplasmic Domains and Luminal Gating.

Mol Cell. 2021 Dec 2;81(23):4799-4809.e5. doi: 10.1016/j.molcel.2021.11.001. (査読有り)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamasaki K, Daiho T, Yasuda S, Danko S, Kawabe JI, Suzuki H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Electrostatic interactions between single arginine and phospholipids modulate physiological properties of sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 12200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-16091-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tomita Atsuhiko, Daiho Takashi, Kusakizako Tsukasa, Yamashita Keitaro, Ogasawara Satoshi, Murata Takeshi, Nishizawa Tomohiro, Nureki Osamu	4. 巻 81
2. 論文標題 Cryo-EM reveals mechanistic insights into lipid-facilitated polyamine export by human ATP13A2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Cell	6. 最初と最後の頁 4799 ~ 4809.e5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.molcel.2021.11.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kato Takanobu A., Daiho Takashi, Yamasaki Kazuo, Danko Stefania, Fujimura Shoko, Suzuki Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Angle change of the A-domain in a single SERCA1a molecule detected by defocused orientation imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-92986-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大保 貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体CaポンプのヘリックスM2とM6のカルシウム輸送における役割
3. 学会等名 トランスポーター研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Daiho T., Yamasaki K.
2. 発表標題 Role of M2 and M6 helices of sarcoplasmic reticulum Ca pump in Ca transport
3. 学会等名 16th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamasaki K. Daiho T. et al
2. 発表標題 Roles of intra-protein and protein-lipids interactions including Arg324 of sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase
3. 学会等名 16th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大保 貴嗣
2. 発表標題 Role of M2 and M6 helices of sarcoplasmic reticulum Ca pump in Ca transport
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、et al
2. 発表標題 筋小胞体CaポンプのヘリックスM2/M6のCa輸送における役割
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎 和生、大保 貴嗣 et al
2. 発表標題 混合脂質環境における筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseの特性の変化について
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、et al
2. 発表標題 筋小胞体CaポンプのヘリックスM2/M6相互作用のエネルギー共役における役割
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第48回討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山崎 和生、大保 貴嗣 et al
2. 発表標題 混合脂質環境における筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseの特性の変化について
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第48回討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、川辺淳一
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ ポンプのエネルギー共役：細胞質-膜貫通領域間における構造変化の伝達
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎和生、大保貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの多機能側鎖Arg324と多種のリン脂質のアンサンブル
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takashi Daiho
2. 発表標題 Role of M2 helix of sarcoplasmic reticulum Ca pump in Ca transport
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomita A, Daiho T, Nishizawa T, Nureki O.
2. 発表標題 Cryo-EM structures and MD simulations of ATP13A2 reveal transport mechanism of polyamines
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、川辺淳一
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ ポンプのM2ヘリックス：膜貫通部分のエネルギー共役における役割
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤孝信、大保貴嗣、川辺淳一
2. 発表標題 Defocus imaging 法による S ERCA1a の A ドメインの角度変化検出
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎和生、大保貴嗣、川辺淳一
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの多機能性残基Arg324 と脂質との相互作用の多様性について
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大保貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ ポンプの第2膜貫通ヘリックス: 膜貫通部分のエネルギー共役における役割
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 和生、大保 貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの結晶構造中に見られた Arg324とリン脂質間のリンクが果たす役割について
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安田 哲、山崎 和生、大保 貴嗣
2. 発表標題 ヒトフリッパーゼATP8A1の反応機構
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大保貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ ポンプのM2ヘリックス: 膜貫通部分のエネルギー共役における役割
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 和生、大保 貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの結晶構造中に見られたArg324とリン脂質間のリンクが果たす役割について
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安田 哲、山崎 和生、大保 貴嗣
2. 発表標題 ヒトフリッパーゼATP8A1とCaポンプの反応機構の比較
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大保貴嗣
2. 発表標題 Role of transmembrane portion of M2 helix in energy coupling of sarcoplasmic reticulum Ca
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大保貴嗣
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプのM2ヘリックス:膜貫通部分のエネルギー共役における役割
3. 学会等名 第15回トランスポーター研究会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
アルゼンチン	Universidad de Buenos Aires		