

【特別推進研究】  
生物系

研究課題名 核磁気共鳴法による膜タンパク質の in situ 機能解明



東京大学・大学院薬学系研究科・教授 しまだ いちお  
嶋田 一夫

研究課題番号： 17H06097 研究者番号：70196476

研究分野： 構造生物学

キーワード： 核磁気共鳴法, Gタンパク質共役型受容体(GPCR), イオンチャネル, トランスポーター

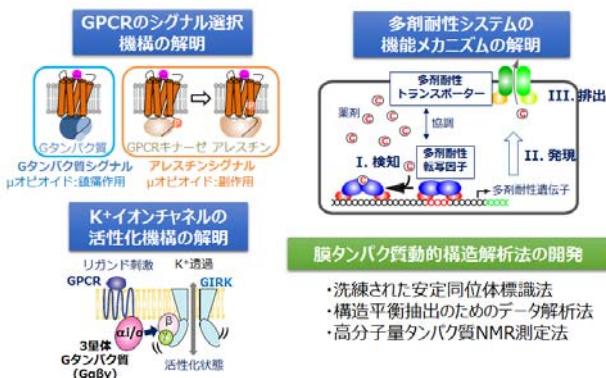
【研究の背景・目的】

膜タンパク質は生体内において重要な役割を果たすとともに最大の創薬標的タンパク質である。X線結晶解析および電子顕微鏡法は、膜タンパク質の機能メカニズムの解明に大きく貢献してきたが、得られる立体構造は静的なスナップショットであり、膜タンパク質が機能している in situ 状態の動的な構造や分子間相互作用を必ずしも反映しない。

本研究では、in situ 条件下でのタンパク質の動的構造情報を得ることが可能な核磁気共鳴法を用いて、生物学的に重要であり、かつ動的構造が機能発現の本質であることが想定される膜タンパク質の機能・構造解析を行う。これにより、1. Gタンパク質共役型受容体(GPCR)のシグナル選択機構、2. イオンチャネルの電流制御機構、3. 多剤耐性システムの機能メカニズムを解明することを研究目的とする。

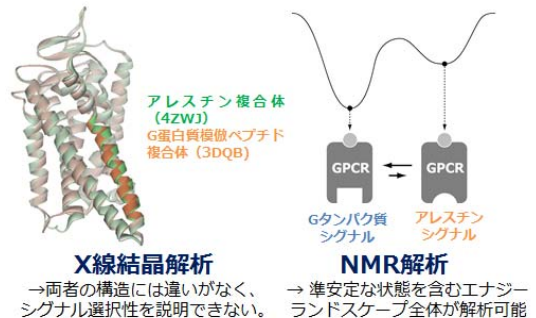
【研究の方法】

本研究では、in situ 条件下における膜タンパク質の動的構造を解析するため、まず昆虫細胞発現系における洗練された安定同位体標識法の開拓、動的構造平衡の解析法の高度化、高分子量タンパク質の動的構造を解析するための新規 NMR 測定法の開発を行う。開発した手法を、GPCRによるGタンパク質とアレスチン活性化のシグナル選択機構の解明、内向き整流性カリウムイオンチャネル GIRKのGタンパク質ファミリー選択的な活性化機構の解明、カリウムイオンチャネル KcsAの脂質二重膜依存的な電流変化機構の解明、多剤耐性システム(転写因子 LmrRとトランスポーターLmrCD)の機能メカニズムの解明に応用する。



【期待される成果と意義】

近年 GPCR とアレスチンの複合体の結晶構造が解かれたが (Kang et al. Nature, 2015)、GPCR 部分の構造は、Gタンパク質を模倣したペプチドとの複合体の結晶構造 (Scheerer et al. Nature, 2008) とほぼ同一であり、シグナル選択機構の解明は安定な状態に偏る結晶構造の情報では困難である。本研究では、NMR法を用いて in situ における Gタンパク質およびアレスチンの活性化機構を動的構造の観点より解明する。これは生命科学の進展に大きく貢献するだけでなく、一方のシグナルを選択的に活性化し理想的な作用を持つ GPCR をはじめとする膜タンパク質を標的とした創薬開発にもつながる。



【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Efficacy of the  $\beta$ 2-adrenergic receptor is determined by conformational equilibrium in the transmembrane region, Kofuku Y, Ueda T, Okude J, Shiraishi Y, Kondo K, Maeda M, Tsujishita H, Shimada I, Nat Commun. (2012) 3, 1045
- Dynamic regulation of GDP binding to G proteins revealed by magnetic field-dependent NMR relaxation analyses. Toyama Y, Kano H, Mase Y, Yokogawa M, Osawa M, Shimada I., Nat Commun. (2017) 8, 14523

【研究期間と研究経費】

平成 29 年度 - 33 年度 354,100 千円

【ホームページ等】

[http://ishimada.f.u-tokyo.ac.jp/public\\_html/index\\_j.html](http://ishimada.f.u-tokyo.ac.jp/public_html/index_j.html)