

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 9 月 2 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07297

研究課題名(和文)小胞体Caポンプのエネルギー共役；触媒部位と輸送部位間の構造変化の伝達機構

研究課題名(英文)Energy coupling in Sarcoplasmic Reticulum Ca pump; mechanism of transmitting structural changes between catalytic and transport sites

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：筋小胞体CaポンプATPaseについて、触媒部位を含む細胞質ドメインとCa輸送部位を含む膜貫通ドメインの間の構造変化の伝達機構を解明する目的で、部位特異的変異導入と速度論的解析を行なった。その結果、両ドメインを繋ぐM2ヘリックスの折れ曲がりやM2上部と細胞質ドメインとの間の相互作用変化が、反応サイクルの段階に応じてその伝達に重要であることを示した。また膜脂質ヘッドグループとCaポンプ間の相互作用がポンプ機能に重要であることを示した。これらよりCaポンプのエネルギー共役機構の理解を深めた。さらにCaポンプの可溶化に適した界面活性剤を探索し、可溶化のCaポンプ機能への効果を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、P型カチオンポンプの代表メンバーである筋小胞体Caポンプについて、エネルギー共役機構、とくにM2の折れ曲がりなどの構造変化が果たす役割の理解を深めた。この成果は他のP型カチオンポンプの構造と機能の関連にも示唆を与えることが期待される。また、Caポンプの可溶化に適した界面活性剤を探索し、Caポンプ機能に対する可溶化の効果を解析した成果は、カチオンポンプに限らず、広く膜タンパク質研究に応用可能な示唆を与えることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In order to explore the transmission mechanism of structural changes between the cytoplasmic domains, which contain the catalytic site and transmembrane domain, which contains the Ca transport sites in sarcoplasmic reticulum Ca-pump ATPase. For this purpose, site-directed mutagenesis and kinetic analysis of the mutants were performed. It was shown that structural changes of M2 helix are important for each reaction step. Importance of interactions between pump protein and lipid head-group was also shown. These results give insights into energy coupling mechanism for ATP hydrolysis and Ca transport in the Ca-pump. Furthermore, effect of solubilization with a detergent was explored.

研究分野：生化学

キーワード：P型カチオンポンプ 筋小胞体 エネルギー共役 Ca-ATPase 部位特異的変異 ヘリックス 界面活性剤 脂質ヘッドグループ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

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、フリッパーゼなどを含み、細胞質ドメインにATP分解の触媒部位、膜貫通ドメインにカチオン輸送部位をもつ。その構造・機能の関連はCaポンプの研究がけん引してきた。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起こることが分かってきた。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するかは不明

であった。とくに、Ca輸送の鍵となるリン酸化中間体(EP)の異性化($E1PCa_2 \rightleftharpoons E2PCa_2$)

($E2P + 2Ca^{2+}$) (図2)のうち前の2つの原子構造が未解明であり、この反応段階での共役機構は不明である。このEP異性化、また非リン酸化中間体の $E2 \rightleftharpoons E1$ では、細胞質ドメインのAドメインが大きく位置を変え、これが膜貫通ドメインとの間の構造変化伝達に強く関連していると予想される。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における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 -)が、その具体的な構造的役割については未解明であった。また、M2周辺の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知られているが、輸送機構における意味は不明であった。また、不可逆的失活しないで膜タンパク質を界面活性剤で可溶化する方法は、目的の膜タンパク質を精製、リポソームや平面脂質2重層膜に再構成することを可能にするため、膜タンパク質研究において不可欠となる。しかし、これまで多くのCaポンプ研究者が用いてきた非イオン性界面活性剤C12E8(Octaethylene Glycol Monododecyl Ether)で可溶化した場合、溶液中のCaイオンがmM以下では数分のうちに不可逆的に活性を失うことが知られている。このときCaポンプをこの活性低下から保護するためにmM Caを加えることは、可溶化状態でのE2の性質を調べるうえで障害となる。またCaポンプをC12E8で可溶化後リポソームに再構成した場合、内腔のCaがCa輸送やATPase活性の測定、種々の素反応を調べる際に障害となる。したがって不可逆的活性低下を引き起こさないで可溶化できる界面活性剤の探索が必要であった。このような界面活性剤は他のP型ATPaseだけでなく、広い範囲の膜タンパク質に应用可能と予想される。

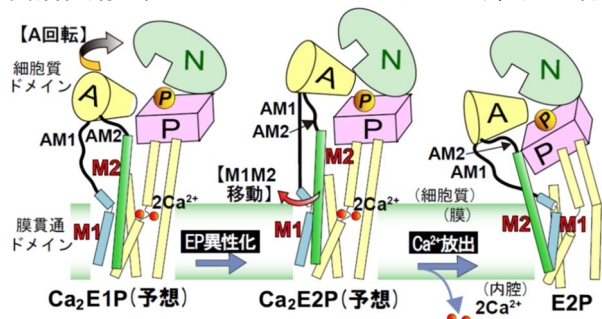


図1

2. 研究の目的

Caポンプ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。そこで本研究では以下の3つを目的とする。まず、膜貫通ドメインから伸びて細胞質Aドメインにループを介してつながる長いM2

ヘリックスに着目し、上記構造変化の伝達における役割を調べ、M2の構造変化が関与するCaポンプのエネルギー共役機構を解明する。また、膜脂質とCaポンプの相互作用変化の意味を、とくにEP異性化において解明する。さらに、不可逆的活性低下を引き起こさないで可溶化できる界面活性剤を探索し、そのCaポンプ機能に及ぼす効果を解明する。

3. 研究の方法

Caポンプのエネルギー共役機構の解明: 細胞質Aドメインと膜貫通ドメインをつなぐ長いM2ヘリックスへの部位特異的変異導入と速度論的解析を用いて、EP異性化($E1PCa_2 \rightleftharpoons E2PCa_2$) および非リン酸化中間体の $E2 \rightleftharpoons E1$ における、細胞質ドメインと膜貫通ドメインの間の相互作用伝達への効果を調べる。即ち、EPの異性化をADP感受性の変化としてとらえ、このときプロテアーゼに対するCaポンプ特異的部位の切断抵抗性の変化により細胞質ドメインの配置変化を調べ、また放射性の ^{45}Ca を用いてCaの結合、解離をみることによりCaゲートの開閉、Ca親和性変化に及ぼす効果を調べる。

膜脂質とCaポンプの相互作用変化の意味を解明: これまでの技術研究の成果にてCaポンプをnanodiscに組み込むことができるようになった。この系を用い、nanodiscに組み込む脂質の種類を変えて、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。

Caポンプを可溶化する界面活性剤の効果: 最近クライオ電顕でタンパク質原子構造を調べる際に用いられているLMNGに着目し、Caポンプをこれで可溶化したときのATPase活性、反

応サイクルの各段階への効果を速度論的に調べる。

4. 研究成果

Caポンプのエネルギー共役機構の解明：細胞質 A ドメインと膜貫通ドメインをつなぐ長い M2 ヘリックスは、機能的に、細胞質に突き出た M2c 部分と脂質 2 重層に埋もれた M2m 部分に区別できる(引用文献 -)。これらの境界部分には他の P 型ポンプでも保存された Gly105 があり、その柔軟性が M2 ヘリックスの折れ曲がり可能にすると予想した。Gly の柔軟性を低下させる Gly105 Ala 置換は、EP の異性化が顕著に遅くなり、また E1PCa₂ および E2PCa₂ における Ca 閉塞が障害を受け、その結果 ATPase 活性の低下と Ca 輸送の障害、即ち脱共役がおこった。また E2 E1 速度を増大した。これらの障害は、加えて 7 残基 C 末側(M2 上部)の Ala112 Gly 置換(G105A/A112G)により完全に回復した。Helical wheel 上での Gly105 と Ala112 の位置はほぼ一致することから、Ca 輸送反応サイクルにて M2 が膝関節のように特異的方向へ折れ曲がり、元に戻ることが ATP 加水分解に共役した Ca 輸送を可能にしていることが明らかになった。

EP 異性化(E1PCa₂ E2PCa₂ E2P + 2Ca²⁺)において細胞質ドメインが集合して形成する疎水性クラスターには M2 上部も関与する(引用文献 -)。そして、このクラスター形成は、M2 上部に存在する Leu119 のプロテナーゼ K (prtK) 切断の抵抗性でもモニターできる(引用文献 -)。E2P では Leu119 切断が障害されるのに対し、内腔側 Ca 結合部位に Ca が結合した E2PCa₂ ではこの Leu119 切断が促進され、細胞質ドメインの集合が緩んでいることを示す。Leu119 切断は、非可溶化濃度の C12E8 存在下の中性条件で観察され、Ca 結合部位近傍に Mg が結合する高濃度 Mg で促進されたが、Ca 結合部位のプロトン化により Ca 結合を阻害する酸性側でブロックされた。したがって、脂質-Ca ポンプ相互作用の阻害により、E2P であっても、細胞質ドメインと M2 上部の相互作用が緩んで Ca 結合部位に基質が結合したような状態を優位にさせることが分かった(主な発表論文)。

膜脂質と Ca ポンプの相互作用変化の意味を解明：ウサギ骨格筋小胞体(SRV)の Ca ポンプを C12E8 で可溶化、精製し、nanodisc に組み込んだ標品を用いた。リン脂質含量から、この標品では SRV 由来の脂質含量は 5%以下であった。nanodisc に組込んだ Ca ポンプを Ca 結合状態(E1Ca₂)で ATP を加え EP 形成したところ、脂質のヘッドグループを変えても EP 形成の速度に大きな差はなかった。これに対し EP 異性化速度はヘッドグループの種類により大きな差が見られ、最速の POPC では最遅の POPS とでは 100 倍もの差があった。種々のイオン強度で EP 異性化速度を測定したところ、負電荷を持つヘッドグループ(POPG, POPS)では静電的相互作用が EP 異性化に抑制的に働くのに対し中性のヘッドグループ(POPE, POPC)では促進的に働くことが示された。また、POPG と POPC の混合脂質では上記プロットの傾きが POPG/POPC 比に応じて変化し、その変化は Native-PAGE から見積もられる膜の表面電荷の変化と良く一致することが明らかとなった(主な発表論文)。

Ca ポンプを可溶化する界面活性剤の効果：Ca ポンプを LMNG で可溶化してその影響を調べた。可溶化により ATPase 活性が可逆的に大きく低下したが、EP 分解(EP 異性化を含む)の速度は部分的にしか低下しなかった。これに対し、E2 E1 速度は非可溶化ポンプと比べて大きく低下した。また、その Ca 濃度依存性は、大きく高濃度側にシフトし、低親和性を示した。次に prtK によるポンプの限定分解パターンをみた。非可溶化ポンプでは EGTA 存在下の E2 状態で M2 上部の Leu119 が切断されて 95kDa のバンドが検出されるが、E1 Ca₂ 状態では消失する。ところが、可溶化ポンプでは EGTA 存在下でも 95kDa のバンドが検出された。従って可溶化ポンプでは E1 状態が強く安定化されていることが示された。この反応段階において膜ドメインの安定性や構造変化に脂質環境との相互作用が重要であることが示された〔学会発表、 、 〕。

<引用文献>

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.

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.

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.

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.

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 Ca(2+)-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.

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.

Daiho T, Yamasaki K, Suzuki H, Saino T, Kanazawa T.
Deletions or specific substitutions of a few residues in the NH(2)-terminal region (Ala(3) to Thr(9)) of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase cause inactivation and rapid degradation of the enzyme expressed in COS-1 cells.
J. Biol. Chem. 1999 Aug 20;274(34):23910-5. doi: 10.1074/jbc.274.34.23910.

Daiho T, Suzuki H, Yamasaki K, Saino T, Kanazawa T.
Mutations of Arg198 in sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase cause inhibition of hydrolysis of the phosphoenzyme intermediate formed from inorganic phosphate.
FEBS Lett. 1999 Feb 5;444(1):54-8. doi: 10.1016/s0014-5793(99)00027-7.

Yamasaki K, Daiho T, Danko S, Suzuki H.
Assembly of a Tyr122 Hydrophobic Cluster in Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺-ATPase Synchronizes Ca²⁺ Affinity Reduction and Release with Phosphoenzyme Isomerization.
J. Biol. Chem. 2015 Nov 13;290(46):27868-79. doi: 10.1074/jbc.M115.693770.

Wang G, Yamasaki K, Daiho T, Suzuki H.
Critical hydrophobic interactions between phosphorylation and actuator domains of Ca²⁺-ATPase for hydrolysis of phosphorylated intermediate.
J. Biol. Chem. 2005 Jul 15;280(28):26508-16. doi: 10.1074/jbc.M503789200.

Danko S, Yamasaki K, Daiho T, Suzuki H, Toyoshima C.
Organization of cytoplasmic domains of sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-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.

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.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamasaki K, Daiho T, Danko S, Yasuda S, Suzuki H.	4. 巻 292
2. 論文標題 Nanodisc-based kinetic assays reveal distinct effects of phospholipid headgroups on the phosphoenzyme transition of sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 20218-20227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.M117.816702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Danko S, Yamasaki K, Daiho T, Suzuki H.	4. 巻 7
2. 論文標題 Membrane Perturbation of ADP-insensitive Phosphoenzyme of Ca ²⁺ -ATPase Modifies Gathering of Transmembrane Helix M2 with Cytoplasmic Domains and Luminal Gating.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 41172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/srep41172.	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29件（うち招待講演 2件／うち国際学会 5件）

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、Stefania Danko、安田哲
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 第92回 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎和生、市村佑人、山崎誠一郎、大保貴嗣、Stefania Danko、安田哲、鈴木裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプのTyr122クラスター変異体で観測された異常に遅いIEP分解
3. 学会等名 第92回 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安田哲、山崎 和生、大保 貴嗣、高津 宏之、申 惠媛、Stefania Danko、鈴木 裕
2. 発表標題 ヒトフリッパーゼATP8A1の反応機構における脂質の影響
3. 学会等名 第92回 日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, Stefania Danko, and Hiroshi Suzuki
2. 発表標題 Effect of solubilization with a detergent on sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase reaction
3. 学会等名 第57回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Osamu Minowa, Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, Hiroshi Suzuki, Toshihiko Shiroishi, Atsushi Yoshiki, Tetsuo Noda, Nagomi Kurebayashi, Takashi Murayama, Kazusaku Kamiya, Yasushi Okazaki, Katsuhisa Ikeda
2. 発表標題 Long-lasting Functional and Structural Damages on the Inner Ear Cells Induced by P-type Ca ²⁺ -ATPase Mutations
3. 学会等名 ARO (Association for Research in Otolaryngology) 43rd Annual MidWinter Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大保貴嗣、山崎和生、Stefania Danko、安田哲
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 生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎和生、市村佑人、山崎誠一郎、大保貴嗣、Stefania Danko、安田哲、鈴木裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプTyr122-疎水性クラスター変異体の古典的物理化学公式を用いた解析 - 酵素反応における疎水性結合の寄与の定量化の試み
3. 学会等名 生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安田哲、山崎 和生、大保 貴嗣、高津 宏之、申 惠媛、Stefania Danko、鈴木 裕
2. 発表標題 ヒトフリッパーゼATP8A1の各反応素過程におけるリン脂質の影響
3. 学会等名 生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 美野輪 治、神谷和作、大保貴嗣、山崎和生、鈴木裕、吉木淳、城石俊彦、野田哲生、岡崎康司、池田勝久
2. 発表標題 Ca ²⁺ -ATPase変異による進行性聴力障害について
3. 学会等名 第36 回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会
4. 発表年 2019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Ca ²⁺ 結合に及ぼす界面活性剤の効果
3. 学会等名 第14回 トランスポーター研究会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大保 貴嗣
2. 発表標題 小胞体カルシウム輸送ポンプのエネルギー共役
3. 学会等名 トランスポーター研究会 13回年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大保 貴嗣, 山崎 和生, Stefania Danko, 安田 哲, 鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの非リン酸化中間体におけるCa ²⁺ 結合に及ぼす界面活性剤の影響
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 和生, 大保 貴嗣, Stefania Danko, 安田 哲, 鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseの脱共役モードについて
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安田 哲, 山崎 和生, 大保 貴嗣, 高津 宏之, 申 恵媛, Stefania Danko, 鈴木 裕
2. 発表標題 フリッパーゼATP8A1の反応と安定性に対する界面活性剤および脂質の影響
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大保 貴嗣, 山崎 和生, Stefania Danko, 安田 哲, 鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプのCa ²⁺ 結合に及ぼす界面活性剤の効果
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第44回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安田 哲, 山崎 和生, 大保 貴嗣, 高津 宏之, 申 恵媛, Stefania Danko, 鈴木 裕
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44回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山崎 和生, 大保 貴嗣, Stefania Danko, 安田 哲, 鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseの脱共役モードについて
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第44回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤 孝信, 藤村 章子, 山崎 和生, 大保 貴嗣, Danko Stefania, 鈴木 裕, 西坂 崇之
2. 発表標題 デフォーカスイメージング法の確度評価とSERCA1aの構造変化検出に向けた試み
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第44回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹村 勤哉、小島 知樹、山崎 和生、大保 貴嗣、Stefania Danko、鈴木 裕、政池 知子
2. 発表標題 ナノディスク中の筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseに標識された単一分子の角度と明滅による中間体構造の評価
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第44回討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, Stefania Danko and Hiroshi Suzuki
2. 発表標題 Glycine 105 as Pivot for a Critical Knee-like Joint between Cytoplasmic and Transmembrane Segments of the Second Transmembrane Helix in Ca ²⁺ -ATPase
3. 学会等名 The 15th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 K. Yamasaki, T. Daiho, S. Danko, S. Yasuda and H. Suzuki
2. 発表標題 Effects of phospholipid's head groups on the properties of sarcoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase embedded in nanodisc
3. 学会等名 The 15th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Danko, K. Yamasaki, T. Daiho, S. Yasuda and H. Suzuki
2. 発表標題 Membrane Perturbation of ADP-insensitive Phosphoenzyme of Ca ²⁺ -ATPase Modifies Gathering of Transmembrane Helix M2 with Cytoplasmic Domains and Luminal Gating
3. 学会等名 The 15th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Suzuki, Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, Satoshi Yasuda, Stefania Danko
2. 発表標題 Structure/function of Ca-ATPase revealed by mutations, kinetics, and structural analyses of reaction intermediates
3. 学会等名 The 15th International Conference on Na,K-ATPase and Related Transport ATPases (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大保 貴嗣、山崎 和生、Danko Stefania、安田 哲、鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの活性に対する界面活性剤の影響
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山崎和生、大保貴嗣、Danko Stefania、安田 哲、鈴木裕
2. 発表標題 ナノディスクに組み込んだ筋小胞体Ca ²⁺ -ATPaseの活性に対する膜表面電荷の影響
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安田 哲、山崎和生、大保貴嗣、高津 宏之、申 惠媛、Danko Stefania、鈴木裕
2. 発表標題 フリッパーゼの生化学的反応機構の解析
3. 学会等名 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大保 貴嗣、山崎 和生、 Danko Stefania、安田 哲、鈴木 裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプの反応に及ぼす界面活性剤の効果
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第43回討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山崎和生、 大保貴嗣、 Danko Stefania、安田 哲、 鈴木裕
2. 発表標題 筋小胞体カルシウムポンプ活性に対する脂質ヘッドグループ及び膜表面電荷の影響の解析
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第43回討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安田 哲、山崎和生、 大保貴嗣、高津 宏之、申 惠媛、 Danko Stefania、 鈴木裕
2. 発表標題 フリッパーゼの反応機構解析
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会 第43回討論会
4. 発表年 2017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
---------------------------	-----------------------	----