

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月7日現在

機関番号：12601

研究種目：特別推進研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19002013

研究課題名（和文） イオン輸送体の構造生物学

研究課題名（英文） Structural biology of ion transporters

研究代表者

豊島 近 (TOYOSHIMA CHIKASHI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授

研究者番号：70172210

研究成果の概要（和文）：

生体中では膜を隔ててイオンの濃度は大きく異なっており、神経興奮や筋収縮などの生命活動の基礎となっている。そのような濃度差を維持するのはイオンポンプ蛋白質と呼ばれる生体膜に埋まった蛋白質（膜蛋白質）である。本研究では、その中でも特に重要なカルシウムポンプとナトリウムポンプの機能を原子構造から完全に理解し、薬剤の開発へと発展させることを目指し、反応サイクル中間体の結晶構造解析、高等動物膜蛋白質の大量生産系の開発、結晶中の生体膜の可視化技術の開発等を行った。

研究成果の概要（英文）：

In living organisms, concentrations of ions differ substantially across the membranes and form the basis for biological activity such as nerve excitation and muscle contraction. Such differences in ion concentrations are maintained by ion pump proteins, which reside in biological membrane. In this research project, we focused on the calcium and the sodium pumps, and carried out the crystal structure analyses of the reaction intermediates, development of a high yield expression system of mammalian membrane proteins, and that of methods for visualizing biological membranes in the crystals, aiming at the complete understanding of the mechanism and development of drugs for the ion pumps.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	89,200,000	26,760,000	115,960,000
2008年度	98,410,200	29,523,060	127,933,260
2009年度	89,500,000	26,850,000	116,350,000
2010年度	96,700,000	29,010,000	125,710,000
2011年度	64,000,000	19,200,000	83,200,000
総計	437,810,200	131,343,060	569,153,260

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：イオンポンプ、膜蛋白質、結晶解析

1. 研究開始当初の背景

本研究は申請者らが取り組んで来た、ウサギ骨格筋の筋小胞体カルシウムポンプ

(Ca²⁺-ATPase, SERCA1a)の構造解析とそれに基づく能動輸送機構の理解を発展させ、最終的には結核菌等の病原菌の膜輸送体の構造

解析を行うことによって薬剤の開発へと結びつけることを目標とするものである。

筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase は P 型 (或いは E1/E2 型) イオン輸送 ATPase (イオンポンプ) を代表する分子量 11 万の膜蛋白質である。同属にはどの動物細胞にもある Na^+ , K^+ -ATPase や胃の pH を維持する H^+ , K^+ -ATPase があり、いずれも生体の恒常性の維持に極めて重要な役割を持つ。筋小胞体カルシウムポンプは ATP 一分子の加水分解あたり 2 個の Ca^{2+} を輸送し、一万倍以上の濃度勾配を形成する。10 本の膜貫通ヘリックスと 3 つの細胞質ドメイン (A, N, P) から成る。 Ca^{2+} は生体反応の調節に最も広範に使われるイオンであり、その濃度勾配の異常は細胞死を引き起こす。従って、関連した疾病はチャネルほど多くはないものの、心臓病や癌治療 (特に前立腺癌)、感染症の治療などの観点からも Ca^{2+} -ATPase は注目されてきた。

結晶化の困難さから、膜輸送体の構造生物学にはごく限られたグループのみが取り組んで来た。一方、膜輸送体の結晶構造のインパクトは絶大であり、たとえば K^+ チャネル構造決定によって MacKinnon に 2003 年度のノーベル化学賞が与えられた。イオンポンプの場合、種類がそれほど多くないこと等もあり、その重要さの割にはもともと人口が少ない。さらに機能がチャネルよりも複雑なこと、分子量が大きいことから構造研究は決定的に遅れていた。申請者らは独自の結晶化技術によって 2000 年に最初の結晶構造を発表し、2004 年までに反応サイクルのほぼ全体をカバーする 6 つの生理的に異なった状態に対する結晶構造を決定でき、4 つの *Nature Article* として発表した。この結果、能動輸送のメカニズムの大略は原子構造に基づいて理解できるレベルに達したと言える。

一連の仕事は *Nature* の News & Views に繰り返し紹介された他、非常に広い範囲の研究者の注目を集め、国際標準の生化学や細胞生物学の教科書 (ストライヤー、ヴォート、レーニンジャー等) に紹介されている他、統計力学の教科書や *Physical Rev. Lett.* のような物理系の最も良い雑誌に発表された論文にも引用されている。これら一連の業績によって豊島は名誉ある米国科学アカデミー外国人会員に 2005 年に選出された。

国際的状況としては、2000 年の筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase の最初の結晶構造 (2 個の Ca^{2+} を結合した状態) から 2003 年迄は完全に独走していたが 2004 年以降はデンマーク・フランスグループが参画し非常に厳しい競争になっている。彼らも本研究の課題である、 Ca^{2+} -ATPase の $\text{E2} \cdot \text{BeF}_x$ 状態や E309A 変異体の構造解析、また Na^+ , K^+ -ATPase の構造解析に取り組んでいる。イスラエルグループも Na^+ , K^+ -ATPase の結晶解析を目指し、発現系を

開発していた。重金属ポンプに関しては、発現・精製が比較的易しいこともあって、3 つ以上のグループが取り組み、個々の細胞質ドメインの構造自体は、米国グループによって決定されたが、重金属ポンプ蛋白質全体の結晶化の報告は無かった。

2. 研究の目的

申請者らは既に筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase を対象に、その反応過程のほぼ全体をカバーする 6 つの状態の結晶構造を決定し、非常に大きな構造変化を伴う、能動輸送のメカニズムの大略を原子モデルに基づいて明らかにした。また原子構造に基づく変異体の研究を米国 Inesi 博士と行い、個々の残基の役割を明らかにしてきた。さらに、分子動力学計算をも取り入れ「どうしてそういう構造でなければならないのか」という問いにもアプローチしてきた。従って、筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase を用いた比較的容易な構造研究はかなりやり尽くした感があるが、本研究では、残された困難な課題にアプローチすること、また、他のポンプや変異体にも取り組み、構造理解のための手がかりを得ることを目標とした。

本研究の開始時点で、比較的手近にある具体的な課題として、(a) 筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase の残された中間体、特に内腔側ゲートが開いている唯一の状態と考えられる E2P 基底状態 (Ca^{2+} 非存在下の磷酸化状態) の構造決定、(b) Ca^{2+} -ATPase 変異体の構造解析、特に Ca^{2+} が 1 個だけ結合した状態の構造決定を可能にすると考えられる E309Q/A 変異体の解析、(c) Ca^{2+} -ATPase (変異体) と薬物複合体の構造決定、特に抗マラリア薬として有名な artemisinin 或いはその派生物との複合体の構造決定、(d) 生物学・医学的にはより重要ともいえる Na^+ , K^+ -ATPase (ナトリウムポンプ) の構造決定、(e) Ca^{2+} -ATPase とは大きく異なった構造を有する重金属ポンプの構造決定、特に銅イオンのポンプである CopA の構造決定、(f) バクテリアの P II 型 ATPase の構造決定、(g) 植物液胞の H^+ ポンプである PPase の構造決定、を提案した。本研究後半では、このような構造研究をさらに発展させ、病原菌の膜輸送体 (ポンプ、トランスポーター) の構造決定を提案した。また、結核菌は、宿主に打ち勝って生育に必須な多種の 2 価金属イオンを取り入れる為に必要なトランスポーター MntH をも持つので、イオンポンプのみならず、トランスポーターまで構造研究の対象を拡げることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 結晶構造解析:

本研究の柱は結晶構造解析である。結晶化に当たっては、磷脂質を外部から加え、蛋白質: 界面活性剤: 磷脂質の比を制御する独自

の方法を追及してきた。これまで、一つの成分を独立に制御可能な透析法を用いてきたが、微量分注器 Mosquito の導入に従い、多数の条件を微量で検索できる蒸気拡散法をも検討することとした。同時に、透析法の微量化技術の開発を行った。

また、これまで脂質二重膜が積み重なった形の結晶 (I 型結晶) では試されたことが無いが、今後重要になることが予想される seeding (種結晶) 技術の開発も試み、非常に有効な場合があることを見出した。同様に、脱水和法の検討を行い、I 型結晶でも有効であることを確認した。実際、 Na^+, K^+ -ATPase に関しては 7 \AA から 2.4 \AA まで分解能を向上できた。

また、中間体の構造決定の為には、安定な基質類似物が非常に重要である。本研究では、燐酸の基底状態の類似物である BeF_x を Ca^{2+} -ATPase に関し、産物状態の類似物である MgF_4^{2-} を Na^+, K^+ -ATPase に関し用いた。

Ca^{2+} -ATPase に関する実験は、豊島、小川、津田と技術補佐員 (岩澤) が行った。 Na^+, K^+ -ATPase に関しては、デンマークグループから提供された鯨由来の試料を用い、豊島と篠田 (大学院生、後に技術補佐員) が結晶化を行った。独自に豚腎臓由来の Na^+, K^+ -ATPase の精製・結晶化も行ったが、鯨由来の試料ほどの成功は得られなかった。篠田の異動に伴い、技術補佐員 (平田) が引き継いだ。植物液胞膜 H^+ -PPase に関しては、豊島の指導の下で三村 (連携研究者) が行った。データ収集はすべて SPring-8、BL41XU ビームラインで行った。X 線の照射損傷を低減するデータ収集方法などの多くの提案をビームラインに対し行った結果、データの質、収集効率ともに著しく改善することができた。

(2) 高等動物膜蛋白質大量発現系の構築 :

変異体の構造解析や、対象とする輸送体を広げるためには、高等動物膜蛋白質の大量発現系の構築が必須である。一方、イオンポンプは分子量 10 万を越えるものも多く、これまでのシステムでは高純度で大量生産を行うことは非常に困難であった。そこで、COS 細胞・アデノウィルスを用いた一過性の発現に関しては、Inesi 博士の協力・指導を得ることができ、またタグの工夫、Tev 蛋白質分解酵素によるタグの切断条件の最適化などの改良を行い、極めて現実的な大量生産システムの構築に成功した。また、GFP の蛍光と FACS とを組み合わせて、動物由来細胞で目的蛋白質を高発現する細胞株を簡便に樹立する技術をも確立した。

(3) 計算機シミュレーション :

本研究のもう一つの柱は計算機によるシミュレーションである。変異体の振舞いを通して、特定のアミノ酸残基の役割を理解する

ために本質的に重要な貢献を為しえる。 Ca^{2+} -ATPase のシミュレーションには 28 万原子を超える非常に大きい系が必要だが、クラスター 1 台を増強し、20 nsec/day のシミュレーションが可能になった。

4. 研究成果

(1) 筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase の反応中間体の構造解析 :

まず、内腔側ゲートが開いていると考えられる唯一の状態である E2P 基底状態 (Ca^{2+} 非存在下の燐酸化状態) の理解を目指し、安定なアナログである $\text{E}2 \cdot \text{BeF}_x$ 複合体の構造を、協力阻害剤 thapsigargin (TG) 存在下では 2.4 \AA 、非存在下では 3.8 \AA 分解能で決定した。TG の結合によってゲートは閉じてしまうが燐酸化部位付近の構造は変わらない。従って、この状態ではゲートは開閉両方の状態を取り得、燐酸化部位付近の詳細な構造情報は TG 有りの構造から、ゲートの開閉機構は TG 無しの構造から理解できると考えられた。図 1 に示すように、M1/M2 ヘリックスで形成される V 字型構造の高さを A ドメインの回転が制御することがゲートの開閉の本質であること、A ドメインの 115° の回転途中 (E2P \rightarrow E2 \cdot Pi) で M2 ヘリックスの細胞質側の一部分がほどけスイッチの役割を果たすことが明らかになった。E2P 基底状態と E2 \sim P 遷移状態で、ゲートの開閉を制御しているものは A ドメインの $^{181}\text{TGES}$ ループであり、基底状態では Gly182 が燐酸と接触して燐酸化アスパラギン酸周辺から完全に水を排除するのに対し、遷移状態では燐酸を攻撃する水一分子が入りだけの隙間ができ、Glu183 がこの水を活性化する結果、反応が進みゲートが閉じた状態が安定化されるのである。すなわち、内腔側ゲートの開閉という構造変化と燐酸化アスパラギン酸の加水分解という化学反応を結びつけることに成功した。また、P ドメインが楔形をしていることの意義、A ドメイン-M1 ループの長さの重要性なども明らかになり、研究は飛躍的に前進した (業績⑧)。

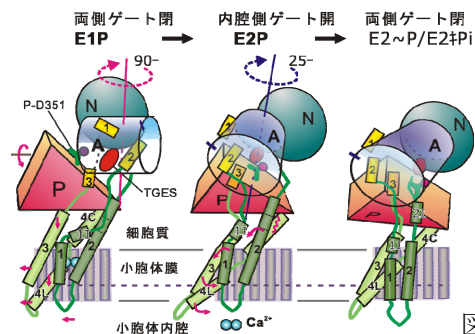


図 1

次に Ca^{2+} 非存在下で Ca^{2+} に対する高親和性を示す E1 状態の構造を決定した。生理的条件化では E1 \cdot Mg^{2+} 状態と記すべき、 Mg^{2+} で安定化された構造であることを Inesi 博士と突き

とめ（業績⑦）、結晶化を行った。3.7 Å 分解能ではあるが、得られた構造は驚くべきものであった。すなわち、A ドメインは $E1 \cdot 2Ca^{2+}$ の位置まで回転しており、イオン通路のゲートとなる Glu309 は外を向いていた。Mg²⁺ がサイト I に結合して大規模な構造変化を起こすことで、Ca²⁺ 結合による反応を加速しているのである。そのために、サイト I は側鎖のみから成り、サイト II は Ca²⁺ 特異的構造なのであろう。これは、Ca²⁺ ポンプによる能動輸送の構造的な理解を完成させる極めて重要な結果であるが、分解能を向上させて発表したい。

また、この過程で、これまでは不可能と考えられていた、阻害剤無しでの 2 つの E2 状態 (E2, E2+Pi) の結晶化にも成功し、高分解能のデータを得た。この結果、TG の有無による構造変化は側鎖レベルでもほとんど無いことが分かった(未発表)。さらに、ATP 結合サイトのレポーターとして広範に使用される TNPAxP との複合体の構造決定を行った。TNPAxP は AxP よりも Ca²⁺-ATPase に強く結合するが、それは、本来ならアデニン環が結合する場所を TNP 基が占め、TNPAxP のアデニン環は ATP 結合に関与する二つの Arg 残基の長い側鎖に挟まれる形で結合するためであることが判明し、ATP 結合部位を標的とする薬剤のデザインに関する指針が得られた。また、TNPAxP の TNP 基の向きは A ドメインとの相互作用で決まっており、TNPAxP の蛍光はドメインの位置関係をよく反映していることが分かった(業績③)。

(2) 薬物複合体と変異体の構造解析：

COS1 細胞にアデノウイルスによる遺伝子導入を行うことにより極めて高いレベルの発現を得ることができる。第一の標的として、有名な抗マラリア薬である artemisinin との複合体の結晶化と結晶構造に基づく薬剤の改良を目指した。まず、これまでの研究対象であるウサギ骨格筋 Ca²⁺-ATPase でも E255L 変異体は artemisinin と高い親和性を持つとの報告に基づいて、Inesi 博士グループが E255L 変異体の大量生産を行った。hydroxyapatite と色素カラムと組み合わせることにより、タグ無しでも単一バンドにまで精製出来たので、蒸気拡散法による結晶化を試みたが成功しなかった。一方で、artemisinin が E255L 変異体に強く結合するという報告自体が誤りであることが我々の測定から判明し、この計画自体は中断された。

一方では、ケンタッキー州立大学の Paula 博士提供の BHQ 派生物と Ca²⁺-ATPase の複合体の結晶化・構造決定も行った(未発表)。

さらに、Inesi 博士の協力も得て、我々の研究室でもアデノウイルス・COS 細胞系による大量発現系を確立した。コントロールとして SERCA1a の発現を行い、タグを工夫した結

果、極めて高い生産・精製効率が得られた(図 2)。CBB 染色)。さらに、ヒト Na⁺, K⁺-ATPase と、artemisinin の本来の標的とされるマラリア原虫 PfATP6 の発現にも成功し、大量生産・精製を行った。以上の結果、構造解析の対象を格段に拡大できることになり、本特別推進研究は新たな段階に突入した。

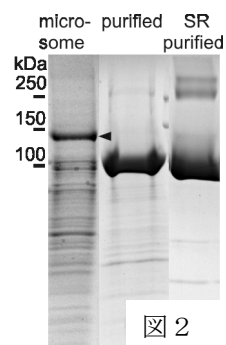


図 2

一方、分子銅力学系三によって、サイト I で Ca²⁺ を配位する Glu771 の Gln 変異体の解析を行った。この結果、その直下にある Ile775 側鎖の重要な役割が理解され、Ca²⁺ 結合そのものが Ile775 側鎖の回転を防いでいること、これが内腔側の疎水性障壁の鍵であることも判明した。この結果、これまで手付かずであった、内腔側ゲートの開閉機構に重要な知見が得られた(業績③)。

(3) Na⁺, K⁺-ATPase の結晶構造解析：

デンマーク

Cornelius 博士との共同研究により 2.4 Å 分解能でほぼ全構造の決定に成功し *Nature* に発表した(業績⑥)。これは E2 · 2K⁺ · Pi 状態の類似体の構造であり、2007 年にデンマークグループにより報告されたものと同一の状態であるが、分解能を著しく向上できたため、彼らの

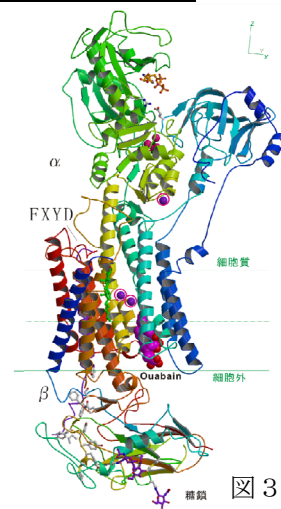


図 3

モデルの多くの誤りを訂正できたほか、β サブユニットと FXYP 蛋白質のモデリングにも初めて成功し、FXYP モチーフの構造的意味も明らかになった。また、ほとんど同じ残基が関与するにもかかわらず、Ca²⁺-ATPase では H⁺ しか対向輸送できないのに対し、Na⁺, K⁺-ATPase では一価の陽イオンなら何でもよいのは、M5 ヘリックス中の Pro 残基と β サブユニットの寄与が本質的であること、コレステロールが関与することも明らかになった。

また、強心配糖体として有名な ouabain の結合部位を明らかにすることにも成功した(図 3)。これまでの多くの予想に反して、ouabain は膜内に深く挿入されており、ラク トン部分が膜貫通ヘリックスの一部分をほ どくことも判明した。(業績④)。この状態では、結合した K⁺ のために ouabain の結合は低親和性であるが、高親和性状態の構造も十分予測可能であり、医学的にも重要な貢献がで

きた。以上をまとめて業績①として発表した。

さらに、この過程で、膜内に結合した K^+ は外部の Tl^+ と置換可能であり、しかも、サイト II の方が速く置換される（「f サイト」である）ことを見出した。また、細胞外側ゲートの機構に関し、細胞質側とは本質的に異なるという重要な知見が得られた（未発表）。

(4) 重金属ポンプの構造解析：

代表的銅イオンポンプである CopA に関し古細菌由来のもの細胞質ドメインを大腸菌で発現させ、AMPPCP, ADP などとの複合体の構造を 1.85 Å 分解能で決定した。また、重金属ポンプで絶対的に保存され Wilson 病で変異が見られる H479Q 複合体の構造も 1.95 Å 分解能で決定した。この結果、His 残基の ATP 結合における役割が明らかになり、Gln に変異させた場合には Gln の側鎖が His のイミダゾール環を模倣する結果、ATP の結合が維持されること、N ドメインに見られる Gly は P ループとは異なり、β 燐酸の結合には関与しないこともわかった。さらに、燐酸化時に ATP から Mg^{2+} をはずす機構のモデルをも提唱できた。これは P 型 ATPase 共通と考えられ、結果を *EMBO J* に発表した（業績⑤）。

一方、中度高熱菌である *Thermotoga maritima* 由来の CopA の全長蛋白質を用い、蛋白分解酵素を用いた系統的研究を行った。この結果、これまでその必要性に関し多くの議論があった N 末端金属結合ドメインはおそらく A ドメインの一部として機能し、銅イオンによる調節を受ける、ATPase 活性に必須の部分であることを証明した。結晶化のためにはどの複合体がよいかをも、燐酸アナログを用いて明らかにした（業績⑨）。さらに Inesi 博士グループと協力し、燐酸化に与える影響を調べたところ、重金属ポンプの反応サイクルは同じ P 型 ATPase であっても Ca^{2+} -ATPase や Na^+ , K^+ -ATPase とは大きく異なることが明らかになった。これは重要な発見であるが、とりあえず JBC に発表した。

(5) 植物液胞膜 H^+ -PPase の結晶構造解析：

植物やマラリア原虫などの原生動物には、ATP ではなくピロ燐酸をエネルギー源とする能動輸送システムがある。ここで対象としたのは、モヤシ豆液胞膜由来のプロトンポンプであり、液胞内腔の pH を下げ、二次輸送体にエネルギーを供給する役割を持つ。ヒトには存在しないので、薬剤標的となりえる蛋白質である。約 10 年を要したが、脂質や界面活性剤などを検討し、精製方法を大幅に改良した結果、再現性良く結晶を得ることができるようになった。それでも回折データが結晶ごとに異なるという致命的問題があったが、この問題も解決でき、通常の重原子置換法による構造決定を行った。脱水和法の検討の結果、構造を 2.0 Å という高い分解能で決定で

きた(図4)。また、多数の阻害剤との複合体の構造決定にも成功し、基質（ピロ燐酸）類似物である PNP, PCP との複合体の構造決定にも成功した。一方では、計算機を用いたプロトン化残基の予想と分子動力学計算を行い、モデルを検証した。

この結果、 H^+ の輸送に関しては、膜貫通ヘリックスの一本がスライドして細胞質側のゲー

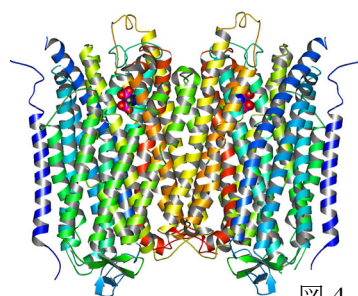


図4

トを開閉するというまったく新しいメカニズムを見出した。なお、構造決定の対象を拡げている間に、台湾グループから PNP 結合状態の結晶構造が発表されたが、パッキングの影響を受けた（誤っているとも言える）構造である。

(6) 結晶中の脂質二重膜の可視化：

X 線溶媒コントラスト変調法による乱れた構造の可視化技術をほぼ完成させ、 Ca^{2+} -ATPase の 4 つの状態に関し脂質二重膜の構造を得た(図5は $E1 \cdot 2Ca^{2+}$ 状態)。この結果、膜貫通ヘリックスの上下運動と共に脂質二重膜も運

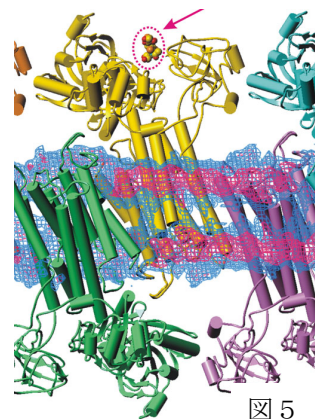


図5

動し、それによって脂質二重膜の厚さは 5 Å 以上変化すること、このとき Lys や Arg などのアミノ酸残基が重要な役割を果たすこと、両親媒性ヘリックスの疎水性領域の側には燐脂質頭部は来ないこと等が判明した。一方、運動が大きすぎる場合には、蛋白質側の相手が変わったり、分子全体の傾きが変わる場合もあることが示された。即ち、脂質二重膜は決して平坦な静的なものでは無いことが示された。また、熱運動が大きいため原子分解能は当然無いが、燐脂質頭部に対応する明瞭な電子密度があり(図5)、原子モデルを置くこともでき、分子動力学計算を行うことによって、得られたモデルの正しさを確認できた。さらに、溶媒置換率を求めることで、結合した Ca^{2+} のごく近傍まで $E1 \cdot 2Ca^{2+}$ 状態では溶媒が接近できるが、 $E2$ 状態では出来ないことも直接的に示された。以上の結果は未発表であるが、本質的に新しい重要な結果であり、中間評価でも高く評価された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計18件)

- ① C. Toyoshima, R. Kanai and F. Cornelius: First crystal structures of Na⁺, K⁺-ATPase: New light on the oldest ion pump. *Structure* **19**, 1732-1738 (2011) 査読有
- ② C. Toyoshima, S. Yonekura, J. Tsueda and S. Iwasawa: Trinitrophenyl derivatives bind differently from parent adenine nucleotides to Ca²⁺-ATPase in the absence of Ca²⁺. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **108**, 1833-1838 (2011) 査読有
- ③ Y. Sugita, M. Ikeguchi, and C. Toyoshima: Relationship between Ca²⁺-affinity and shielding of bulk water in the Ca²⁺-pump from molecular dynamics simulations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **107**, 21465-21469 (2010) 査読有
- ④ H. Ogawa, T. Shinoda, F. Cornelius and C. Toyoshima: Crystal structure of the sodium-potassium pump (Na⁺, K⁺-ATPase) with bound potassium and ouabain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **106**, 13742-13747 (2009) 査読有
- ⑤ T. Tsuda and C. Toyoshima: Nucleotide recognition by CopA, a Cu⁺-transporting P-type ATPase. *EMBO J.* **28**, 1782-1791 (2009) 査読有
- ⑥ T. Shinoda, H. Ogawa, F. Cornelius and C. Toyoshima: Crystal structure of the sodium-potassium pump at 2.4 Å resolution. *Nature* **459**, 446-450 (2009) 査読有
- ⑦ G. Inesi, D. Lewis, C. Toyoshima, A. Hirata and L. de Meis: Conformational fluctuations of the Ca²⁺-ATPase in the native membrane environment. *J. Biol. Chem.* **283**, 1189-1196 (2008) 査読有
- ⑧ C. Toyoshima, Y. Norimatsu, S. Iwasawa, T. Tsuda and H. Ogawa: How processing of aspartylphosphate is coupled to luminal gating of the ion pathway in the calcium pump. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **104**, 19831-19836 (2007) 査読有
- ⑨ Y. Hatori, E. Majima, T. Tsuda and C. Toyoshima: Domain organization and movements in heavy metal ion pumps: Papain digestion of CopA, a Cu⁺-transporting ATPase. *J. Biol. Chem.* **282**, 25213-25221 (2007) 査読有
- ⑩ M. Takahashi, Y. Kondou and C. Toyoshima: Interdomain communication in calcium pump as revealed in the crystal structures with transmembrane inhibitors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **104**, 5800-5805

(2007) 査読有

[学会発表] (計23件)

- ① C. Toyoshima: "Do lipid bilayers follow movements of transmembrane helices? If so, to what extent?" The EMBO Meeting 2011, Sep. 12, 2011, Vienna, Austria
- ② C. Toyoshima: "A structural view on ion pumping by Ca²⁺-ATPase." FASEB Summer Research Conferences, Transport ATPase: From molecules to maladies. Jun. 6, 2010, Snowmass, Colorado, USA (Key Note Lecture)
- ③ C. Toyoshima: "How Ca²⁺ ATPase pumps ions across the sarcoplasmic reticulum membrane." 1st Sir Michael Berridge Lecture, 10th Symposium of the European Calcium Society, Sep. 17, 2008, Leuven, Belgium
- ④ C. Toyoshima: "Calcium, Proteins, Energy, and Life", Hitchcock Lecture. Apr. 30 & May 1, 2008, Berkeley, California, USA
- ⑤ C. Toyoshima: "How does Ca²⁺-ATPase pump ions across the membrane?" The Luigi Sacconi Memorial Lecture in Chemistry, Oct. 30, 2007, Florence, Italy

[その他]

ホームページ等

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/StrBiol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊島 近 (TOYOSHIMA CHIKASHI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授
研究者番号: 70172210

(2) 研究分担者

小川 治夫 (OGAWA HARUO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・准教授
研究者番号: 40292726

津田 岳夫 (TSUDA TAKEO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 10345233 (H19-H21)

近藤 洋平 (KONDOU YOUHEI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 30436604 (H19)

石北 央 (ISHIKITA HIROSHI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 00508111 (H20)

(3) 連携研究者

三村 久敏 (MIMURA HISATOSHI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 30463904 (H21-H23)

金井 隆太 (KANAI RYUTA)

東京大学・分子細胞生物学研究所・助教
研究者番号: 50598472 (H23)