

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H00975

研究課題名(和文) P型ATPaseによる能動輸送とその制御機構の構造生物学

研究課題名(英文) Structural biology of active transport and its regulation by P-type ATPases

研究代表者

豊島 近 (Toyoshima, Chikashi)

東京大学・定量生命科学研究所・特任教授

研究者番号：70172210

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、イオン能動輸送機構の完全な理解を目指し、Ca²⁺ポンプと、Na⁺ポンプ(Na⁺, K⁺-ATPase)のX線結晶解析とクライオ電子顕微鏡法による構造決定を遂行した。出発点となるのは反応中間体の原子構造であるが、Ca²⁺ポンプでは構造決定に成功した中間体の数を17にまで増やした他、「ATPによる燐酸化のためには何故Ca²⁺の結合が必須であるか」を明らかにした。一方にNa⁺ポンプに関しては、E2・2K⁺状態の構造決定によって細胞質外側イオン通路の2段構えのゲートとロックの機構を明らかにし、7種の強心ステロイドとの複合体の構造決定によって、組織特異性の付与を可能にする知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イオンポンプは生体の恒常性の維持に極めて重要な役割を持つ膜蛋白質であり、特にNa⁺ポンプは高血圧や心不全、癌、神経疾患等に深くかかわる、医学的にも極めて重要な膜蛋白質である。Ca²⁺ポンプは、そのほとんどすべての中間状態の原子構造が明らかになっている唯一の膜蛋白質である。プロトンから脂質二重膜までを含む、原子構造に基づく蛋白質の理解がここまで進んだ蛋白質は無く、学術的価値は極めて高い。また、Na⁺ポンプと強心ステロイドとの複合体の構造決定により、これまでよりも強力な或いは組織特異的な薬剤開発への道を開くことにも成功した。これは、医学的にも価値ある成果である。

研究成果の概要(英文)：We have been aiming at a complete understanding of the mechanism of active ion transport and eventually solving the problem "why the structures of ion pumps have to be so". To this end, we have been applying X-ray crystallography and cryo-electron microscopy to the calcium pump and sodium pump (Na⁺, K⁺-ATPase) and have succeeded in extending the structure determination of the calcium pump to 17 reaction intermediates. Also, we could answer a fundamental question "why calcium-binding is absolutely necessary for phosphoryl transfer from ATP". With the sodium pump, we have determined the structure for the E2.2K⁺-state, and thereby elucidated the mechanism of gating and locking of the extracellular ion pathway. Furthermore, we determined the structures of the sodium pump with seven types of cardiotonic steroids and obtained insights into how to confer tissue specificity to these components.

研究分野：構造生物学

キーワード：イオンポンプ 膜蛋白質 カルシウムポンプ ナトリウムポンプ ATPアーゼ 強心ステロイド X線結晶解析 クライオ電子顕微鏡

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私達は P 型イオン輸送 ATPase(ポンプ)を代表する筋小胞体 Ca^{2+} ポンプ (Ca^{2+} -ATPase, SERCA) と、医学的にはより重要ともいえる Na^+ ポンプ (Na^+ , K^+ -ATPase, NKA) の原子構造に基づく能動輸送機構の理解を目指し、研究を続けてきた。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膜蛋白質である。従って、心臓病や癌、感染症の治療などの観点からもイオンポンプは注目を集めてきた。

P 型 ATPase の結晶構造解析には、私達が 2000 年に筋小胞体 Ca^{2+} ポンプの最初の結晶構造(図 1 の $\text{E1}\cdot 2\text{Ca}^{2+}$ 状態)を発表して以来、多くのグループが取り組むようになった。本研究開始時点で 10 個の中間体や変異体の結晶構造研究に成功しており(図 1)、易しいものは既にやられた感があった。一方、結晶中の脂質二重膜を可視化する独自技術(コントラスト変調法)の開発に成功し、SERCA の 4 つの状態の結晶に適用した結果、イオンポンプは脂質二重膜をもイオンポンプの機能発現に利用していること、膜貫通ヘリックスの上下運動に伴いポンプ蛋白質全体がロッキング運動すること、Trp は脂質二重膜に対する浮きとして働くことなど、本質的に新しい知見が得られた(2017 年; 図 2)。また、量子化学計算の適用によって正しい水素結合ネットワークやプロトンの同定を可能にした結果、SERCA の構造研究は新しい次元に達した(2018 年)。一方で、NKA に関しては、結晶化の困難さから、研究の進展はほぼ停止してしまい(図 3)、P 型 ATPase は磷脂質の flippase 等をも含むことから、多くの研究者の興味はそちらに移した感がある。特に、クライオ電顕による単粒子解析の技術が確立した結果、中程度に精製した標品をある程度の量得ることができさえすれば、P 型 ATPase にクライオ電顕を適用することは十分可能であり、構造研究の対象は大幅に広がった。

2. 研究の目的

本研究の目指すところは第一に、原子構造に基づくイオン能動輸送機構の完全な理解であり、「どうしてそういう構造でなければならないのか」を理解することである。そのために、可能な限りすべての中間体の構造決定を目指す。特に重要な中間体は、ATP と輸送イオンを結合した三者複合体 ($\text{E1}\cdot \text{ATP}\cdot 2\text{Ca}^{2+}$) であり、その形成経路は複数ある(図 1)。これまでは SERCA の一つの経路(図 1 の左端)に集中してきたが、一つの遷移で複数の非常に大きな構造変化が起こる(図 2)ことから、構造変化間の因果関係等はよくわからなかった。この問題は、複数の経路の中間体構造を決定することによって解決できる可能性がある。また、これまでは、技術的な問題から SERCA のみがほぼ唯一の網羅的中间体構造決定が可能な対象であったが、クライオ電顕の導入によって、NKA もほぼ同等の中间体の構造決定が可能になると期待される。これまでの研究から、SERCA と NKA の基本となる動作原理は同一であろうが、その実装は大きく異なるかもしれないことが分かってきた。対応する状態の構造が明らかになれば、その構造比較から輸送体の特性と構造との連関を理解することが可能になり、何が作動原理の本質なのかを正しく理解することができると期待される。

3. 研究の方法

「構造はどうしてそうでなければならないのか」を理解するためには、イオン輸送サイクル中のすべての反応中間体の構造を X 線結晶解析あるいはクライオ電顕によって決定し、プロトンが重要な場合には量子化学計算によってその位置を同定する必要がある。これまでの研究から、イオンポンプは脂質二重膜までもその反応機構の重要な一部としていることが判明している。膜蛋白質のクライオ電顕による構造決定に当たっては非常に多くの場合、磷脂質はほぼ完全に除去されているが、自然な脂質環境に近い状態での構造決定が必須である。そのための技術開発を行い、NKA の場合には、多くの磷脂質を解像できることが分かった。しかし、その場合であっても、低分解能の電顕構造では負の荷電を持つ磷酸基は解像されないことから「大部分の磷脂質では脂肪酸鎖しか見えない」というモデリングには不都合な状況が生じる。また、クライオ電顕のマップは電子密度を表すわけではないので、その解釈は困難である場合もあった。特に陽イオンの結合サイトを構成するのは Asp や Glu などの酸性アミノ酸であり、そのカルボキシル基は負の荷電のために、電子線では解像できない場合が多い。従って、配位の詳細を知るためには X 線結晶構造解析がほぼ必須である。一方、結晶を必要としないことの優位性は他の欠点を補って余りあるもので、NKA の $\text{E2}\cdot 2\text{K}^+$ 状態の構造決定は、結晶解析では成功しなかった。従って、手法としては X 線結晶解析とクライオ電子顕微鏡法の併用が望ましい。

4. 研究成果

イオンポンプの能動輸送機構の構造的解明を目指しカルシウムポンプ(SERCA)とナトリウムポンプ(NKA)の X 線結晶解析と新たにクライオ電子顕微鏡法による構造生物学研究を行った。本研究によって SERCA に関しては、17 の中間状態の構造決定に成功し(図 1)、NKA に関しては結晶化の困難さから 3 つの中間状態の構造しか決定できていなかったものが SERCA と同程度の 11 の中間状態の構造決定にまで至ることができた。これまでは、一つだけの反応経路に沿った中間体の構造決定に集中してきたが、本研究によって異なった径路の中間体構造に踏み込むことができ、予想外に大きな構造情報が得られることが分かった。例えば、 Ca^{2+} を結合した SERCA の ATP による磷酸化に際しては一度に多くの構造変化が起こるために、何が原因で何が結果なのかよくわからないが、 Ca^{2+} 非結合時の ATP 結合状態 ($\text{E2}\cdot \text{ATP}$) の構造によって、

ATP の結合そのものでどこまでの構造変化が起こるかが明らかになった。また、NKA の作動原理は SERCA と同じだろうから、一方だけの構造決定で十分と考えていたが、対応する状態の構造が両方で明らかになるにつれ、SERCA と NKA は、同じ作動原理に基づくものの、その実装 (例えば、A ドメインは何度傾斜するのかとか) は大きく違っていることが分かってきた。その実装の違いは、運搬するイオンの違いや要求される性能 (回転速度とか) によるものではなく、対応構造の比較によって得られた知見は予想を遥かに超える本質的なものであった。

一方で、精製困難な isoform や変異体の構造研究のためには、高等動物培養細胞を用いた発現系が必須となる。SERCA に関しては、アデノウイルス・COS 細胞系を用いて 1 mg 程度の高度に精製された標品を得る技術を確立でき、日常的に研究に用いてきた。しかし、NKA の場合は非常に困難であり、10 年以上に亘って技術開発を行ってきた結果、本研究によって、ようやく大量生産系を確立することができた。これによって、神経疾患に深くかかわる NKA 3 とその変異体の構造研究が可能になった。

(1) Ca²⁺ポンプ反応中間体の構造解析:

SERCA に関しては E2·ATP 状態の結晶構造解析、2つの Ca²⁺結合サイトの段階的生成過程の解明と、Ca²⁺が低 pH でプロトンを結合した E2·nH⁺状態に結合したときに得られる状態 (図1の E*·2Ca²⁺) の結晶構造の決定を行った。PNAS 誌に発表した に関しては以下にやや詳しく述べる。 に関しては、生化学的にわかっていた Mg²⁺や K⁺による Ca²⁺結合の促進機構を解明することができ、さらに4調節蛋白質 phospholamban 或いは sarcolipin との複合体の構造決定によってどの部分反応を制御するのか、また、その制御の性質の違いを解明することもできた。 に関しては、A ドメインや M1 ヘリックスの予想外の挙動が観察され、それぞれの役割に関する新しい知見が得られた (いずれも未発表)。

E2·ATP 状態の結晶構造: E1·2Ca²⁺ → E1·ATP·2Ca²⁺ 遷移においては分子全体に渡る大規模な構造変化が生じる。E1·2Ca²⁺状態では開いていた細胞質側頭部は E1·ATP·2Ca²⁺では閉じ、A ドメインは ~30° 傾斜する。燐酸化 (P) ドメインは N 末側 (P_N)、C 末側 (P_C) 二つの領域から成り、中央には7ストランドの並行βシートが走っている。非燐酸化状態では P_N、P_C は まっすぐだが、βシートには1番目 (Pβ1) と5番目のβストランドの間で段差がある。燐酸化時にはβシートを構成する7つのβストランドは整列し、P_N P_C はともに燐酸化残基 Asp351 に接近するように折れ曲がる (図2)。Ca²⁺ポンプは Ca²⁺非存在下でも ATP に対し高い親和性 (μM) を持つので、生理的条件下では Ca²⁺放出後の状態は ATP を結合した E2·ATP と考えられる。この状態の結晶化に成功し、構造を 2.6 Å 分解能で精密化した。但し、速筋の Ca²⁺ポンプである SERCA1a では結晶化できず、高等動物細胞で発現させた心筋・遅筋の Ca²⁺ポンプ SERCA2a を用いる必要があった。

ATP による燐酸化のためには Ca²⁺の結合が必須であるが、逆反応を利用した無機燐酸による燐酸化は Ca²⁺非存在下の E2 状態でのみ起こる。従って、E2 で ATP による燐酸化が起きないのは「ATP は燐酸化部位に正しく配達されない」からか「P ドメインの折れ曲がり起きない何らかの理由がある」かであろう。ATP による燐酸化が起こるためには、3つある細胞質ドメイン (A, N, P) が正しく配置する必要があるから、正しい A-N interface が生じ得ないようであれば説明できる。しかし、得られた構造では ATP は N ドメインと P ドメインを正しく架橋し、ATP_γ燐酸は燐酸化部位に正しく位置していた。また、A ドメインは E2 位置ではなく E1 位置にあること、N ドメインは P ドメインに対し、E1·ATP·2Ca²⁺状態と完全に一致する位置まで傾斜しており、A/N interface もほぼ正しいことが分かった。一方で P ドメインの折れ曲がりには起こっておらず、中

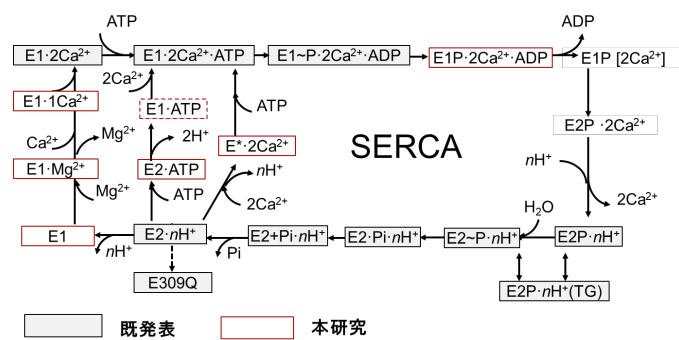


図 1. Ca²⁺ポンプの反応ダイアグラム。 で囲った中間体の原子構造は決定済み。E1/E2は Ca²⁺に対し高親和性/低親和性を意味し、P は燐酸化を示す。

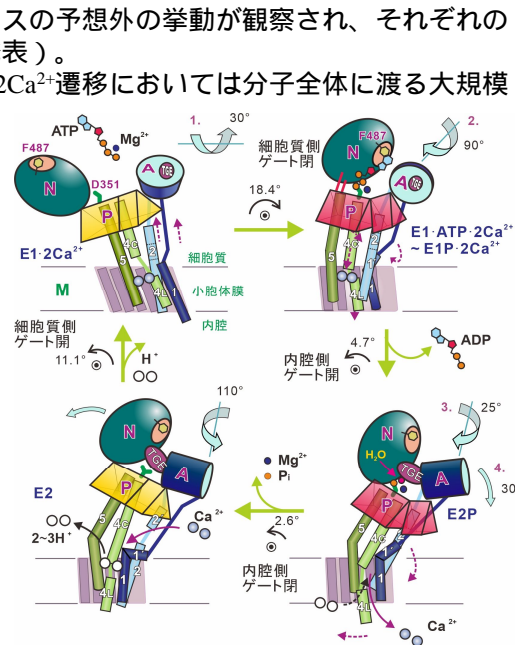


図 2. Ca²⁺輸送サイクルの模式図。4つの状態で10本の膜貫通ヘリックスと3つの細胞質ドメインの大規模な再配置が起こる。膜貫通部位に結合した2個のCa²⁺を内腔側に放出するところ (ステップ2)では、Aドメインが90°回転し、その回転を膜貫通ヘリックスM4の下向き運動に変換してCa²⁺を押し出す。4つの状態で、ポンプ蛋白質全体が脂質二重膜に対して傾きを変える (ロッキング運動)。 上の数字はその角度。

中央のβシートも E1·ATP·2Ca²⁺状態とは違い、段差を残したままであった。P ドメインの折れ曲がりβシートとの連関は理解されていなかったが、P 型 ATPase に絶対的に保存されている Lys 残基 (Lys684) がやはり絶対的に保存されている Asp707 とともに二つの運動を統御しており、さらには燐酸化 Asp の側鎖の向きまで連動していることがわかった。この結果、今まで理解されていなかった Lys684 と Asp707 の役割が初めて理解された。

一方、Mg²⁺が結合しさえすれば、P ドメインの折れ曲がり (すなわち燐酸化) は Ca²⁺結合によらず熱運動だけで起こりそうである。実際、無機燐酸による燐酸化は Ca²⁺を必要としない。では「何故 ATP による燐酸化のためには 2 個の Ca²⁺の結合が必須なのか」。この本質的問いに答えるために、E2·ATP 状態の構造から出発して燐酸化が起こった状態の仮想的構造を構築した。膜面に対する傾斜角は E1·AMPPCP·2Ca²⁺状態とは大きく異なっており、M2, M4 ヘリックスは膜面に対して低い位置に固定されたままであった。これは、E2 状態を安定化するプロトン結合によって M5 ヘリックスが湾曲した状態で固定されているにも拘らず A ドメインが E1 位置にあるために、N ドメインが最も深く傾斜する必要があったためである。すなわち、プロトンの放出によって M5 ヘリックスが真っすぐになり、さらに Ca²⁺結合によって M2, M4 ヘリックスが解放されて高い位置に来ることが燐酸化に必須であることが理解された。ポンプ作動機構に関する最も根本的な問いの一つに対する答えが得られたことになる。

(2) Na⁺ポンプ (NKA) の構造生物学研究:

NKA に関しては、E2·2K⁺状態、E1·3Na⁺状態の構造決定に加え、種々の強心ステロイドとの複合体の構造解析、Na⁺ポンプを陽イオンチャネルに変えてしまう海産毒物 palytoxin との複合体の構造解析を行った。クライオ電子顕微鏡法の導入により、研究は大きく前進し、これまでは良質の結晶が得られず中断していた E2·2K⁺状態、さらにはそれに ATP が結合し、K⁺が細胞質側に放出される直前の E2·2K⁺·ATP 状態の構造など、本研究で実に 7 つの中間体の構造を新たに決定することができた (図 3)。NKA は人工的な二量体を作りやすい上に、最低量の界面活性剤で可溶化することで、分解能はそれほど高くないものの、ほぼ天然の脂質環境を維持したままの解析に成功している。

E2·2K⁺状態の構造決定: この状態で NKA は Na⁺の代わりに 2 個の K⁺を高親和性で結合し、膜内に隔離している (図 3)。SERCA では K⁺の代わりに H⁺が結合し、細胞質側への放出は熱運動により自発的に起こるが、E2·2K⁺状態は非常に安定であり、ATP の結合を必要とする。従って、NKA を用いることで「細胞外側のゲートの実体は何か」「ゲートのロック機構の実体は何か」を追求することができる。また、この構造は NKA としては初の非燐酸化状態の構造であり、SERCA で確立できた構造変化と同じ構造変化が起こっているのかも大きな関心事であった。

NKA の E2·2K⁺状態の構造の概観は E2·2K⁺·Pi 状態とよく似ており、構造の違いは SERCA の対応する状態間の違いに比べて小さかったが、脱燐酸化に伴う P ドメインの折れ曲がりには同じように解消されており、イオン結合と輸送の中心となる M4 ヘリックスの細胞外側 (M4E) も同様に傾きを変化させていた。細胞外側イオン通路は 2 段構えのゲートとロック機構から成っており、K⁺結合によって 2 段あるゲートは閉じるが、M4E の傾きの変化によって、すなわち P ドメインの折れ曲がりの解消によって初めてロック機構が働くこと、実際には M4E ヘリックスの細胞外側膜表面近くにある Phe の側鎖 (ノブ) が、E2P 状態から存在する、M3, M4, M5 ヘリックスで囲まれた「穴」にはまることによって M4E ヘリックスを固定することが判明した。また、ゲートがロックされた E2·2K⁺状態では、もはや K⁺を強く結合する必要はないわけだが (実際、Na⁺を結合して燐酸化された状態 (図 3 の E1~P·ADP·3Na⁺状態) の Na⁺の結合は緩い) E2·2K⁺状態のサイト II の配位は、脱燐酸化に伴う M4 ヘリックスの運動によって、明瞭に悪くなっている。つまり、(K⁺を放出する) 次のステップに向けてイオンポンプは準備しているのである。

NKA は ATP を基質として (燐酸化のために) 利用するだけではない。本研究で初めて明らかになったことであるが、ATP は、E2P 状態では A ドメイン-N ドメイン間を架橋し、細胞質側ドメインの配置を安定化する。一方、E2·2K⁺状態に ATP が結合すると、A-N ドメイン間は開かれる。これは、P ドメインの折れ曲がりの有無によって A-N ドメイン間の界面が異なるためであり、E2P では A ドメインの Arg233 と塩橋を形成するのに対し、E2·2K⁺では A ドメインの Glu214, Glu216 と静電的な反発を起こすことによって、A-N 間を開くためである。この結果、M5 ヘリックスの運動は自由になり、P ドメインを通じて M4 ヘリックスも上下運動が可能になる。その結果、K⁺の放出が著しく加速されることが判明した。

7 種の強心ステロイド (CTS) との複合体の構造決定: 強心ステロイド (ジギタリス類)

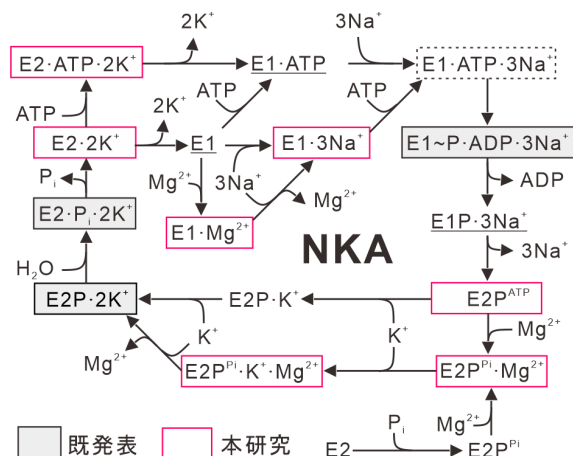


図 3. Na⁺ポンプの反応ダイアグラム。で囲った中間体の原子構造は決定済み。E1/E2:は Na⁺に対し高親和性/低親和性を意味し、P は燐酸化を示す。

は 2 世紀以上にわたって心不全に対し処方されてきたが、NKA の強力阻害剤でもあり、使いにくいものであった。そのため、組織特異的な薬剤の開発が待たれていたが、本研究により結合の詳細が明らかになり、親和性の向上のみならず組織特異性の付与に関しても重要な指針を与えることができた。CTS を結合していない E2P 状態の結晶化の成功によって、CTS は E2P 状態の NKA の立体構造をほぼ変えることなく結合することや、糖鎖とラクトン環の種類による親和性の違いが複合体構造からよく説明された。また、正反応で ATP により形成された E2P (図 3 の E2P^{ATP}) と逆反応によって Pi から形成された E2P (E2P^{Pi}) の生化学的性質は異なり、CTS の影響も異なるが、それは逆反応に際し添加される Mg²⁺ が膜貫通領域に結合するためであり、二つの E2P 状態は変換可能であること、CTS の結合そのものは同一であることがわかった。さらに CTS の一種である bufalin を結合させた結晶を K⁺ の代替物質である Rb⁺ を含む溶液に浸漬することにより、1 個の K⁺ と 1 個の Mg²⁺ を結合した状態を作り得ることが判明し、2 個の K⁺ の順序だった結合過程と CTS による阻害メカニズムを明らかにすることができた。さらには、新世代の心不全薬として期待されている istaroxime の結合様式は 2 種類あること、高血圧薬として期待されている rostafuroxin は速度論的な効果によって内在性 CTS を置換出来るらしいこと等、多くの新しい知見が得られた。以上の結果を PNAS 誌に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 豊島 近	4. 巻 72
2. 論文標題 筋小胞体カルシウムポンプの構造とイオン輸送機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 505-509
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Kanai Ryuta, Cornelius Flemming, Vilsen Bente, Toyoshima Chikashi	4. 巻 596
2. 論文標題 Cryo electron microscopy of Na ⁺ ,K ⁺ ATPase reveals how the extracellular gate locks in the E2·2K ⁺ state.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 2513 ~ 2524
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/1873-3468.14437	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 該当する
1. 著者名 Kanai Ryuta, Cornelius Flemming, Vilsen Bente, Toyoshima Chikashi	4. 巻 119
2. 論文標題 Cryoelectron microscopy of Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase in the two E2P states with and without cardiotonic steroids.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences, USA	6. 最初と最後の頁 e2123226119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2123226119	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 該当する
1. 著者名 Takaharu Sakuragi, Ryuta Kanai, Akihisa Tsutsumi, Hiroataka Narita, Eriko Onishi, Kohei Nishino, Takuya Miyazaki, Takeshi Baba, Hidetaka Kosako, Atsushi Nakagawa, Masahide Kikkawa, Chikashi Toyoshima, Shigekazu Nagata	4. 巻 28
2. 論文標題 The tertiary structure of the human Xkr8-Basigin complex that scrambles phospholipids at plasma membranes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 825-834
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41594-021-00665-8	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 Kabashima Yoshiki, Ogawa Haruo, Nakajima Rie, Toyoshima Chikashi	4. 巻 117
2. 論文標題 What ATP binding does to the Ca ²⁺ pump and how nonproductive phosphoryl transfer is prevented in the absence of Ca ²⁺	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 18448 ~ 18458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2006027117	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 Kanai Ryuta, Cornelius Flemming, Ogawa Haruo, Motoyama Kanna, Vilsen Bente, Toyoshima Chikashi	4. 巻 118
2. 論文標題 Binding of cardiotonic steroids to Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase in the E2P state	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 1 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2020438118	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 該当する

1. 著者名 豊島 近	4. 巻 26
2. 論文標題 イオンポンプの結晶構造解析	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 SPRING-8/SACLA 利用者情報	6. 最初と最後の頁 109-118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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6件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 豊島 近
2. 発表標題 What is the activation signal for phosphoryl transfer in the calcium
3. 学会等名 Honorary Skou Professor Seminar, Aarhus University, Aarhus, Denmark (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊島 近
2. 発表標題 イオンポンプの構造生物学：脂質二重膜からプロトンまで
3. 学会等名 2019年度 iBIX-JAXA-KEK物構研-QST合同研究会「クライオEM、X線、中性子タンパク質構造解析の住み分け」（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金井 隆太、Cornelius Flemming, 小川 治夫、元山 かん奈、Vilsen Bente, 豊島 近
2. 発表標題 Na,K-ATPaseのE2P状態における強心ステロイドの結合様式
3. 学会等名 SPring-8シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金井 隆太、Cornelius Flemming, Vilsen Bente, 豊島 近
2. 発表標題 Na ⁺ を結合した非磷酸化状態のNa ⁺ ,K ⁺ -ATPaseの結晶構造解析
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 金井 隆太、Vilsen Bente, Cornelius Flemming, 豊島 近
2. 発表標題 Na ⁺ ,K ⁺ -ATPaseと脂質二重膜との相互作用の結晶学的解析
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金井 隆太、Cornelius Flemming, Vilsen Bente, 豊島 近
2. 発表標題 Na+を結合した非リン酸化状態のNa+,K+-ATPaseの構造解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022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
研究分担者	梶島 佳樹 (Kabashima Yoshiki) (00580573)	東京大学・定量生命科学研究所・特任助教 (12601)	
研究分担者	金井 隆太 (Kanai Ryuta) (50598472)	東京大学・定量生命科学研究所・特任助教 (12601)	

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		
デンマーク	Aarhus University		