

平成25年度(基盤研究(S))研究概要(採択時)

【基盤研究(S)】

生物系(農学)



研究課題名 コレステロール恒常性の鍵をにぎる ABC 蛋白質の作用機構解明

京都大学・物質—細胞統合システム拠点(WPI-iCeMS)・教授

うへだ かずみつ
植田 和光

研究分野: 農芸化学、応用生物化学

キーワード: 膜輸送蛋白質、動脈硬化、アルツハイマー病、細胞膜メゾ領域

【研究の背景・目的】

コレステロール恒常性の破綻は動脈硬化症の原因であり、日本人の死因の約30%を占める血管系の異常を引き起こす。コレステロール恒常性は、合成、取り込み、貯蔵の各段階において綿密に制御されている。近年、それらに加えて細胞からのコレステロール排出が重要であり、複数のABC蛋白質が余剰コレステロールの排出に関与していることが明らかになった。しかし、それらABC蛋白質の生理的役割や作用機構には多くの謎が残されている。ABC蛋白質は、共通のATP加水分解ドメインをもち、ATP依存的にさまざまな物質を輸送する膜輸送蛋白質の総称であり、ヒトには48種類のABC蛋白質が存在する。本研究は、コレステロール恒常性に関与するABC蛋白質の作用機構を、生化学的解析、細胞生物学的解析、蛍光プローブを用いた1分子観察や結晶構造解析などを統合し、解明することを目的とする。

【研究の方法】

①全反射照明蛍光顕微鏡を用いた1分子イメージングによるHDL形成機構の解明(1分子生物学)

ABCA1は、コレステロール恒常性にとって重要な善玉コレステロール(HDL)形成の鍵を握っている。これまでの研究により、ABCA1がHDL形成途中で細胞膜上で二量体化し、静止することを明らかにした。本研究では、ABCA1変異体などの1分子解析によって、ABCA1によるHDL形成メカニズムを明らかにする。さらに、ABC蛋白質によって形成および破壊される細胞膜メゾ領域の可視化を試みる。

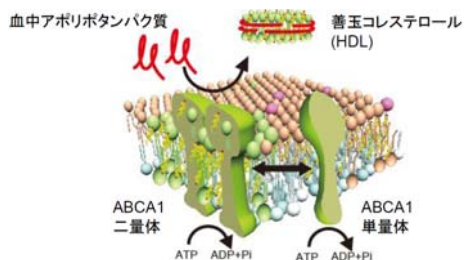


図1

我々が提唱しているABCA1によるHDL形成機構モデル

②結晶構造解析によるABC蛋白質の作用機構の解明(構造生物学)

真核単細胞生物(紅藻)のABC蛋白質の構造を世界最高レベルの高分解能で明らかにし、ABC蛋白質の基質認識機構およびATP加水分解に伴う構造変化

のメカニズムを解明する。

③生化学的、細胞生物学的解析によるABC蛋白質の作用機構の解明(生化学・細胞生物学)

②の研究で明らかになった構造に基づいたアミノ酸置換導入によって、基質認識と輸送に重要なアミノ酸残基を同定する。体内および脳内の脂質恒常性に関与するABCA1、ABCA7、ABCA13、ABCB4、ABCG1、ABCG4などを特異的に発現した培養細胞および精製蛋白質を用いた生化学・細胞生物学的実験などによって、これらABC蛋白質の基質特異性、輸送機構、活性制御機構を明らかにする。

【期待される成果と意義】

ABC蛋白質は動脈硬化予防の鍵を握るHDL形成にとって必須だけでなく、脳内コレステロール恒常性にも関与し、アルツハイマー病や他の神経疾患とも関係する。ABC蛋白質の作用機構を解明することは、これら疾病の予防や治療にとって重要である。

しかし、ABC蛋白質は巨大な膜蛋白質であり、機能の解析は容易ではない。申請者は、これまで積み上げてきた経験を生かして、生化学的解析、細胞生物学的な解析だけでなく、1分子イメージングと結晶構造解析を統合することによって作用機構を解明しようとしており、成果が期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nagata, K., O., Nakada, C., Kasai, R. S., Kusumi, A. and Ueda, K. ABCA1 dimer-monomer interconversion during HDL generation revealed by single-molecule imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 5034-5039 (2013)
- Hozoji-Inada, M., Munehira, Y., Nagao, K., Kioka, N., and Ueda, K. LXR β directly interacts with ABCA1 to promote HDL formation during acute cholesterol accumulation. *J. Biol. Chem.* 286, 20117-24 (2011)

【研究期間と研究経費】

平成25年度-29年度
159,600千円

【ホームページ等】

<http://www.biochemistry.kais.kyoto-u.ac.jp/>