

ライフサイエンス分野

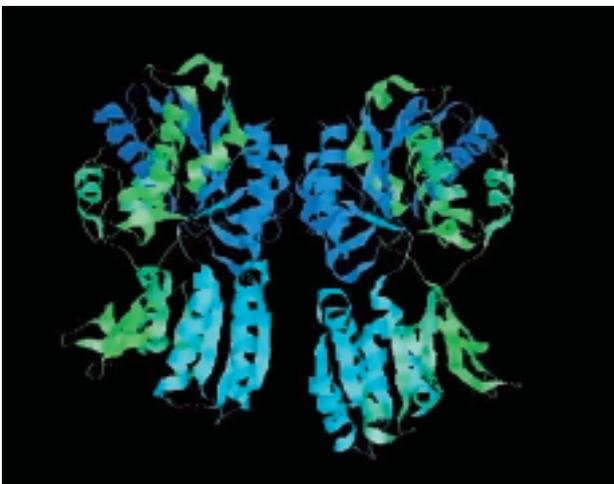
八木 直人

1. シグナル伝達に關与する細胞膜レセプターの構造生物学研究

生物分子工学研究所および理化学研究所との共同研究を行った。

代謝型グルタミン酸受容体の結晶構造解析

代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) は中枢神経系興奮性シナプス伝達の調節において主要な役割を果たす膜蛋白質である。我々は、mGluR1の細胞外リガンド結合領域を単離・結晶化し、グルタミン酸結合体および非結合体を含む3種類の結晶構造を決定した。これらはすべてジスルフィド結合でつながった同種二量体から成り、それらの「活動型」および「静止型」と名付けられた形状は、向かい合ったヘリックス構造から形成される二量体接触面を通じて相互に変換される。二枚貝状の単量体は、その2つのドメインの間隙にグルタミン酸を結合し、また、ドメイン配置を柔軟に変化させて「開いた」あるいは「閉じた」形状を呈する。これらの結晶構造は、グルタミン酸との結合が「活動型」二量体および「閉じた」単量体の両方を、動的平衡状態において安定化することを示唆する。二量体中の4つのドメインの配置は膜貫通領域および細胞内領域の分離状態に影響し、これが受容体活性化の要因であると考えられる。受容体活性化の初期過程を説明するこの様式は、細胞外リガンド結合部位を持つG蛋白質共役型神経伝達物質受容体に広くあてはまる可能性がある。



代謝型グルタミン酸受容体の結晶構造

発表論文

N. Kunishima, Y. Shimada, Y. Tsuji, T. Sato, M. Yamamoto, T. Kumasaka, S. Nakanishi, H. Jingami, and K. Morikawa : Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature* **407** (2000) 971-977.

2. プロスタグランジンD2合成酵素の構造生物学研究

大阪バイオサイエンス研究所、理化学研究所、奈良先端技術大学院大学との共同研究を行った。

ヒト造血管型PGD2合成酵素のMg²⁺による活性化の発見

造血管型酵素がMg²⁺により活性化されることを見出し、Mg²⁺存在下での結晶構造を決定した。その結果、二量体の境界に6個のAsp残基(各サブユニットのAsp93、Asp96、Asp97)で捕捉されるMg²⁺の存在を確認し、MgイオンがAsp96およびArg14を介してグルタチオンと相互作用を持つことを明らかにした。

脳型PGD2合成酵素のX線溶液散乱

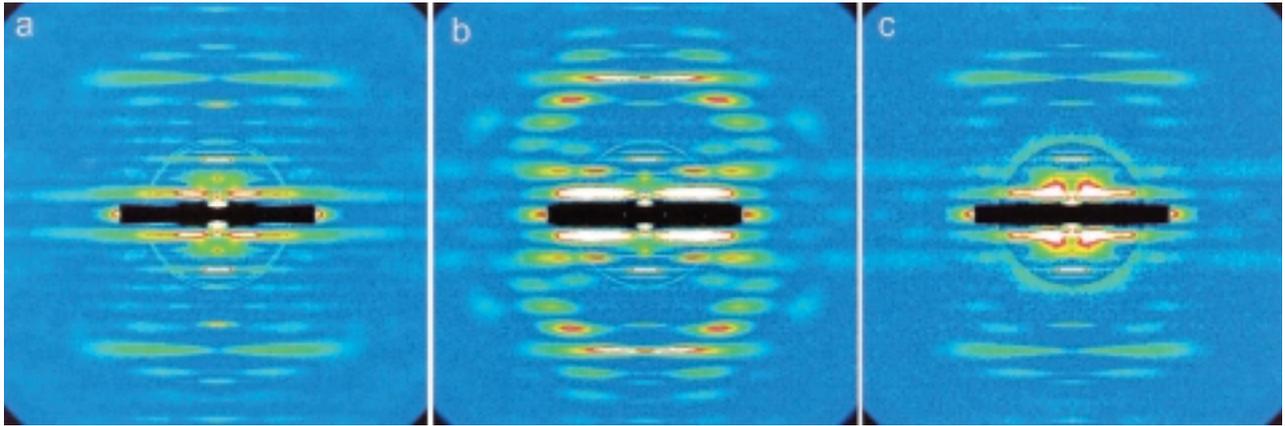
SPring-8のBL40B2を用いてヒト脳型PGD2合成酵素のX線溶液散乱実験を行い、溶液中のタンパク構造の検討を行った。低濃度の変性剤存在下での酵素活性の上昇に伴う分子構造の変化を確認した。

3. 放射光のパルス特性を利用した動的構造生物学研究

奈良先端技術大学院大学、理化学研究所との共同研究を行った。

理研小角散乱ビームラインにおける時分割実験

SPring-8の理研小角散乱ビームライン (BL45XU) を用いて、時間分解能10~100msの時間分解能で時分割X線回折実験を行った。カエル骨格筋においては、クロスブリッジが細いフィラメントの収縮制御系と相互作用し、弛緩の過程を延長していることを明らかにした。また、アクチンとクロスリンクしたミオシン頭部を用いてウサギ骨格筋のX線回折実験を行い、ATP分解反応中にミオシンがアクチンと結合している時間が非常に短いことを明らかにした。



ウサギ骨格筋のX線回折パターン

紫膜においては、NとMの二つの光反応中間体の崩壊の過程を構造的に追跡することに成功した。

高フラックスビームラインにおける時分割実験

SPring-8の高フラックスビームライン(BL40XU)が平成12年4月に利用可能となったのちは、マイクロ秒領域の時分割実験を、骨格筋、紫膜、タンパク結晶を対象として行っている。骨格筋においては高速CCDカメラと低残光X線イメージンシファイアを組み合わせることにより、530マイクロ秒の連続時分割実験が可能となった。紫膜ではYAGレーザーと高速パルス型X線シャッターの組み合わせにより10マイクロ秒の時間分解能でパルスの露光を行って、光反応中間体の生成と崩壊過程を追跡している。タンパク結晶については、やはり10マイクロ秒程度のパルスの露光で十分な質のX線回折像が得られることを確認した。

発表論文

H. Iwamoto, T. Suzuki and T. Fujisawa : Time-resolved two-dimensional x-ray diffraction study of the effect of shortening on activation of contracting skeletal muscle. *European Journal of Physiology* **439** (2000) 646-649.

T. Oka, N. Yagi, T. Fujisawa, H. Kamikubo, F. Tokunaga, and M. Kataoka : Time-resolved x-ray diffraction reveals multiple conformations in the M-N transition of the bacteriorhodopsin photocycle. *Proceedings of National Academy of Science USA* **97** (2000) 14278-14282.

H. Iwamoto, K. Oiwa, T. Suzuki, and T. Fujisawa : X-ray Diffraction Evidence for the Lack of Stereospecific Protein Interactions in Highly Activated Actomyosin Complex. *Journal of Molecular Biology* **305** (2001) 863-874.