
小胞体カルシウムポンプの触媒部位から Ca^{2+} 輸送部位への
共役エネルギーの伝達機構

16570091

平成 16 年度~平成 17 年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C) (2)) 研究成果報告書

平成 18 年 5 月

研究代表者 大保 貴嗣
(旭川医科大学医学部助教授)

は し が き

研究組織

研究代表者： 大保 貴嗣 (旭川医科大学医学部助教授)

交付決定額（配分額）

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 16 年度	2,400	0	2,400
平成 17 年度	1,400	0	1,400
総 計	3,800	0	3,800

研究発表

(1) 学会誌等

1. Kazuo Yamasaki, Katsuhiko Sato, Takashi Daiho, Yuki Miyauchi, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Satoshi Nakamura, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

Distinct type of Abnormality in Kinetic Properties of Three Darier Disease-causing Sarco(endo)plasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA2b) Mutants

生化学、76 巻、8 号、2004 年 8 月 25 日

2. Takashi Daiho, Yuki Miyauchi, Kazuo Yamasaki, Katsuhiko Sato, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Satoshi Nakamura, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

Comprehensive and systematic analysis of function and expression of the 51 missense mutants of SERCA2b found in Darier's Disease patients

生化学、76 巻、8 号、2004 年 8 月 25 日

3. Guoli Wang, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Stefania Danko, and Hiroshi Suzuki

Essential Roles of Hydrophobic Interactions at the Interface of Gathered P and A Domains of Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase in Energy Transduction

生化学、76 巻、8 号、2004 年 8 月 25 日

4. Hiroshi Suzuki, Stefania Danko, Kazuo Yamasaki, and Takashi Daiho

Distinct natures of Be/F-bound, Al/F-bound, and Mg/F-bound stable analogues of an ADP-insensitive phosphoenzyme intermediate of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase

生化学、76 巻、8 号、2004 年 8 月 25 日

5. Stefania Danko, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, and Hiroshi Suzuki

Distinct natures of beryllium fluoride-bound, aluminum fluoride-bound, and magnesium fluoride-bound stable analogues of an ADP-insensitive phosphoenzyme intermediate of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase: changes in catalytic and transport sites during phosphoenzyme hydrolysis

The Journal of Biological Chemistry, Vol. 279, No. 15, 2004, Jan 30

6. Katsuhiko Sato, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Yuki Miyauchi, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Satoshi Nakamura, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

Distinct types of abnormality in kinetic properties of three Darier disease-causing sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase mutants that exhibit normal expression and high Ca^{2+} transport activity

The Journal of Biological Chemistry, Vol. 279, No. 34, 2004, Jun 18

7. Guoli Wang, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, and Hiroshi Suzuki

Critical hydrophobic interactions between phosphorylation and actuator domains of Ca^{2+} -ATPase for hydrolysis of phosphorylated intermediate

The Journal of Biological Chemistry, Vol. 280, No. 28, 2005, May 17

8. Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, and Hiroshi Suzuki

Ca^{2+} occlusion and de-occlusion at transport sites of phosphoenzyme intermediates of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase studied by mutagenesis

生化学、77 卷、8 号、2005 年 8 月 25 日

9. Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, and Hiroshi Suzuki

Analysis of Ca^{2+} -release process in the phosphorylated intermediates of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase by mutagenesis

生化学、77 卷、8 号、2005 年 8 月 25 日

10. Masaki Yoshida, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

ATP2C1 is specifically localized in the basal layer of normal epidermis and its depletion triggers keratinocyte differentiation

Journal of Dermatological Science, 2006 Apr 16; [Epub ahead of print] in press

(2) 口頭発表

1. Yuki Miyauchi, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Katsuhiko Sato, Hiroshi Suzuki, and Hajime Iizuka

Comprehensive and systematic analysis of function and expression of the 51 missense mutants of SERCA2b found in Darier's Disease patients

第 29 回日本研究皮膚科学会年次学術大会、2004 年 4 月 15 日

2. Kazuo Yamasaki, Katsuhiko Sato, Takashi Daiho, Yuki Miyauchi, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Satoshi Nakamura, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

Distinct type of Abnormality in Kinetic Properties of Three Darier Disease-causing Sarco(endo)plasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA2b) Mutants

第 77 回日本生化学会大会、2004 年 10 月 14 日

3. Takashi Daiho, Yuki Miyauchi, Kazuo Yamasaki, Katsuhiko Sato, Hidetoshi Takahashi, Akemi Ishida-Yamamoto, Satoshi Nakamura, Hajime Iizuka, and Hiroshi Suzuki

Comprehensive and systematic analysis of function and expression of the 51 missense mutants of SERCA2b found in Darier's Disease patients

第 77 回日本生化学会大会、2004 年 10 月 14 日

4. Guoli Wang, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Stefania Danko, and Hiroshi Suzuki

Essential Roles of Hydrophobic Interactions at the Interface of Gathered P and A Domains of Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase in Energy Transduction

第 77 回日本生化学会大会、2004 年 10 月 14 日

5. Hiroshi Suzuki, Stefania Danko, Kazuo Yamasaki, and Takashi Daiho

Distinct natures of Be/F-bound, Al/F-bound, and Mg/F-bound stable analogues of an ADP-insensitive phosphoenzyme intermediate of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase

第 77 回日本生化学会大会、2004 年 10 月 14 日

6. 山崎 和生、王 国麗、大保 貴嗣、鈴木 裕

筋小胞体CaポンプのTyr122残基を中心とした疎水性相互作用の重要性

日本生体エネルギー研究会第 30 回討論会、2004 年 12 月 18 日

7. 鈴木 裕、山崎 和生、大保 貴嗣、佐藤 克彦、宮内 勇貴、高橋 英俊、山本 明美、中村 哲史、Danko Stefania、飯塚 一

小胞体Caポンプ分子異常によるダリエー病

日本生体エネルギー研究会第 30 回討論会、2004 年 12 月 18 日

8. Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, Guoli Wang, Danko Stefania, and Hiroshi Suzuki
Changes in Interactions between Phosphorylation and Actuator-domains of sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase during Processing of Phosphoenzyme Intermediate
11th International Conference on Na,K-ATPase & Related Cation Pumps, 2005 年 9 月 6 日
9. Stefania Danko, Kazuo Yamasaki, Takashi Daiho, and Hiroshi Suzuki
Distinct natures of Be/F-bound, Al/F-bound, and Mg/F-bound stable analogues of an ADP-insensitive phosphoenzyme intermediate of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase
11th International Conference on Na,K-ATPase & Related Cation Pumps, 2005 年 9 月 6 日
10. Takashi Daiho, Kazuo Yamasaki, and Hiroshi Suzuki
 Ca^{2+} occlusion and de-occlusion at transport sites of phosphoenzyme intermediates of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase studied by mutagenesis
第 78 回日本生化学会大会、2005 年 10 月 20 日
11. Kazuo Yamasaki, Guoli Wang, Takashi Daiho and Hiroshi Suzuki
Analysis of Ca^{2+} -release process in the phosphorylated intermediates of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase by mutagenesis
第 78 回日本生化学会大会、2005 年 10 月 20 日
12. ダンコー ステファニーア、山崎 和生、大保 貴嗣、鈴木 裕
筋小胞体 Ca -ATPase リン酸化中間体の安定な構造アナログの開発
第 43 回日本生物物理学会年会、2005 年 11 月 23 日
13. 大保貴嗣、山崎和生、鈴木裕
筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase リン酸化中間体の輸送部位における Ca^{2+} 閉塞／脱閉塞の部位特異的変異による研究
日本生体エネルギー研究会第31回討論会、2005年12月21日
14. 山崎和生、大保貴嗣、鈴木裕
筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase リン酸化中間体からの Ca^{2+} 放出過程の部位特異的変異による解析
日本生体エネルギー研究会第31回討論会、2005年12月21日

研究成果

筋小胞体 Ca^{2+} -ATPase (SERCA1a) は ATP 加水分解に共役して Ca^{2+} を細胞質から小胞体内腔に汲み上げ、 Ca^{2+} による細胞機能制御に必須の役割を果たす。 Ca^{2+} 輸送部位は膜貫通ドメインにあり、細胞質に突き出た領域の 3 つのドメイン (A、P、N) に触媒部位がある。リン酸化部位が P (リン酸化ドメイン) に、ATP のアデノシン部分の結合ポケットは N (ヌクレオチド結合ドメイン) に存在する。 Ca^{2+} 輸送は、細胞質の 3 つのドメインの相互作用の変化が輸送部位に伝達されることによると予想されている。我々は、リン酸化中間体の構造転換 (E1P→E2P) に伴い A ドメインが 90° 以上も大きく回転しドメイン P へ結合することを示唆した。

1. Tyr¹²² などの 7 残基がドメイン A-P の界面に形成する疎水性クラスターが EP の構造転換と小胞体内腔への Ca^{2+} 放出に必須であろうこと、さらに構造転換後の E2P の構造形成に重要な役割を担うことを明らかにした。(Wang, G. *et al.* (2005) *J. Biol. Chem.* 280 (28), 26508-26516)

2. 本酵素 (E2) に Be/F、Al/F、または Mg/F が結合したの複合体が本酵素のリン酸化中間体とその加水分解過程の安定なアナログであり、各々、基底状態、遷移状態、酵素・生成物複合体のアナログであることを示した。さらに、リン酸化中間体の加水分解過程における触媒部位の変化により Ca^{2+} 輸送路が閉じて小胞体内腔から Ca^{2+} を漏出させない構造が獲得されることを示した。(Danko, S. *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* 279 (15), 14991-14998)

3. ダリエー病の原因となる SERCA2 b 変異体 3 種 I274V, L321F, M719I の変位酵素について発現量と速度論的解析を行った。I274V と M719I が野生型にかなり近い性質をもつことから、haploinsufficiency を避けるためには厳格な機能要求があること、また内腔の Ca^{2+} 感受性低下が見られた L321F ではこの性質と神経精神的病態との関連性が指摘された。(Sato, K. *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* 279 (34), 35595-35603)

4. ゴルジ体に存在する Ca^{2+} , Mn^{2+} -ATPase が表皮基底層に特異的に発現しており、その消失が keratinocyte の分化を誘導することが示された。(Yoshida, M. *et al.* (2006) *J. Dermatol. Sci.* in press)

本研究により、 Ca^{2+} 輸送における最も重要なプロセスについての理解が顕著に進み、これによりエネルギー共役機構の解明に大きく貢献した。これらの成果は以下に綴じた論文として国際誌に掲載された。