

マグネシウムイオンの通り道と輸送システムを解明！

濡木 理

哺乳類では、全遺伝子の約 1 割が、受容体やチャネルなど、タイプのタンパク質を作り出すためにあると考えられている。こうした膜タンパク質は極めて重要でありながら、試料の調整や結晶化がむずかしいことから解析がうまく進んでいなかった。今回、東京工業大学大学院命理工学研究所の濡木 理教授は、マグネシウムイオンを輸送する MgtE という膜タンパク質の構造解析に成功し、マグネシウムイオンの認識システムや輸送システムも解明した。詳細は、*Nature* 2007 年 8 月 30 日号で発表された。

高度好熱菌の熱ゆらぎの少なさが結晶化のかぎに

Nature Digest — なぜマグネシウムイオンの輸送に興味をもたれたのでしょうか？

濡木 — もとは、嗅覚や味覚に関連する受容体の膜タンパク質に興味がありました。1 年くらい試行錯誤しましたが、高等真核生物にしかみられない感覚受容体は試料の調製がむずかしいなどの問題があり、うまくいきませんでした。まずは、膜タンパク質の構造解析のための基盤作りが必要だと痛感し、手始めに、原核生物にも保存されている金属イオンの輸送体（トランスポーター）で解析手法を確立しようと考えました。具体的には、まだ未解明だったマグネシウムイオンのトランスポーターを対象にすることにしました。

ND — マグネシウムは生体でどのような機能をもつのでしょうか？ また、マグネシウムイオントランスポーターとはどのようなタンパク質なのでしょう？

濡木 — マグネシウムは、あらゆる生物の細胞内で、ポリメラーゼやキナーゼなどのさまざまな酵素が機能するために必須の金属です。水溶液中でイオン化したマグネシウムは水と強く水和し、通常は 1 分子あたり 6 個の水分子が結合しています。

一方、マグネシウムトランスポーターは、細胞膜を貫通し、マグネシウムの輸送に関わる膜タンパク質の総称です。これまでに細菌で 4 種（CorA、MgtA、Mgt B、MgtE）、ヒトで 3 種（CorA、MgtE、TRPM6/7）が知られています。複数種が存在するのは、いずれかに不具合が生じた場合に補償するためだと考えられます。

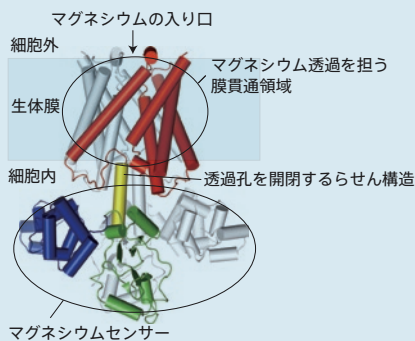


図 1 MgtE の全体構造。TM ドメイン（赤）が細胞膜を貫通し、中央にマグネシウムを輸送する細長い孔がある。細胞膜の内側には、コネクティングヘリックス（黄）、N ドメイン（青）、CBS ドメイン（緑）が存在する。

初めに構造が明らかにされたのは、細菌からヒトまで広くみられ、マグネシウムイオンの濃度勾配に従って輸送する「CorA」とよばれるチャネルタイプのものでした¹。一方、MgtA と MgtB は、ATP を加水分解して得られるエネルギーでマグネシウムイオンを汲み上げるポンプタイプのトランスポーターです。この 2 つの構造解析はまだなされていませんが、2004 年に、東京大学分子生物学研究所の豊島 近先生がカルシウムのポンプタイプのトランスポーターの構造を明らかにされており²⁻⁵、MgtA と MgtB もそれと似たような構造とシステムをもつのではないかと考えられています。残る MgtE は、細胞内のマグネシウムイオンの濃度を一定に保つ機能をもつことが示唆されていましたが、その構造も、マグネシウムの認識システムも、駆動源も未解明のままでした。

ND — 今回、高度好熱菌の MgtE の結晶化に成功した理由は？

濡木 — 実は、30 種くらいの細菌の MgtE 遺伝子を大腸菌に導入することで、各細菌の MgtE タンパク質を大量発現させようとした。ところが、実際に作らせることができたのは、このうちのわずか 2 種だけでした。さらに、界面活性剤を使うことで結晶化にまでこぎ着けたのは、これらの 2 種のうちの 1 種、高度好熱菌という細菌だけでした。高度好熱菌のタンパク質は約 80°C の高熱にも安定なので、私たちの実験環境である約 20°C は極低温状態だといえます。よって、熱ゆらぎが極端に少ないと思われ、このことが結晶化のかぎになったようです。さらに、たまたま MgtE の分子内の電荷分布が、結晶化に都合がよかったこともあります。

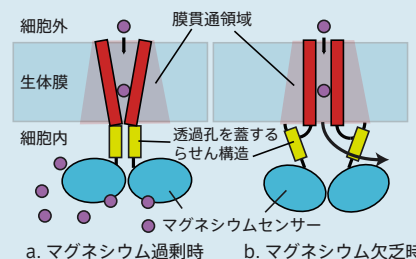
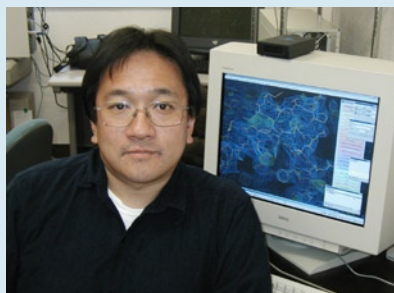


図 2 マグネシウムイオンの濃度を一定に保つ仕組み。細胞内のマグネシウムイオン濃度が高い場合（左）には、マグネシウムイオンがコネクティングヘリックスに結合することにより、コネクティングヘリックス（黄）がマグネシウムイオンの通過孔を出口でふさぐように角度を変える。マグネシウムイオン濃度が低い場合（右）には、コネクティングヘリックスや CBS ドメインなどが左右に開くことで通過孔が開放され、細胞内にマグネシウムイオンが流入する。



濡木 理 (ぬれき・おさむ) / 東京工業大学大学院生命理工学研究科・教授。理学博士。1965年生まれ。1988年、東京大学理学部生物化学科卒業。1993年東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程修了。同年、日本学術振興会特別研究員PD、1994年理化学研究所基礎科学特別研究員(結晶学研究室)、1995年東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻・助手、2002年同・助教授を経て2003年より現職。

1987年東京大学理学部生物化学科にて研究を始めて以来、2002年まで、タンパク質合成にかかわるtRNA、および、その修飾やアミノアシル化に働く酵素の分子生物学、生化学、構造生物学の研究を行ってきた。この間、真核細胞のDNA組み換えに働くタンパク質や、上皮成長因子とその受容体の複合体のX線結晶構造解析を行った。2003年に東京工業大学に移り、自分の研究室を構えてからは、tRNAの修飾・プロセッシングに働く酵素の構造解析を続けるとともに、がん細胞の転移・浸潤、および膜タンパク質に関する構造生物学を始めている。

基質自身によって行われていた輸送制御

ND — 結晶解析ではどのようなことがわかりましたか？

濡木 — 結晶は、兵庫県播磨にある放射光施設「Spring-8」を用いて解析しました。その結果、MgtEタンパク質分子は3つの部位(ドメイン)からなり、そのうちの1つ(膜貫通TMドメイン)が細胞膜に埋まる形で細胞内に突き出ていることがわかりました⁶。TMドメインの内部には、マグネシウムイオンを通すための細長い孔が細胞膜を貫通して存在しており、その下部(細胞内側の部位)にはコネクティングヘリックスとよばれるらせん状の構造が2本つながっています。細胞質ドメインにマグネシウムイオンが結合している状態(すなわち、細胞内のマグネシウムイオン濃度が高いとき)では、コネクティングヘリックスが動くことで通過孔をふさいでいました。細胞質ドメインにあるマグネシウム結合部位はマイナスの電荷を帯びており、プラスの電荷をもつマグネシウムイオンと配位結合することで電荷が中和され、その結果として細胞質ドメインがコンパクトな配置を取り、コネクティングヘリックスを介して孔が閉じ続けていたのです。

一方、細胞質ドメインにマグネシウムイオンが結合していないとき(すなわち、細胞内のマグネシウムイオン濃度が低いとき)には、マイナス電荷をもつ細胞質ドメインどうしが反発しあって、その下にあるコネクティングヘリックスが、それぞれ20度ずつ開いてしまいます。その結果、イオン透過孔が貫通することになり、細胞外からマグネシウムイオンが流れ込んでくるわけです。

ND — MgtEはマグネシウムイオンだけを認識して輸送するのでしょうか？

濡木 — マグネシウムイオンは水和半径が最も大きいイオンの1つです。実験では、MgtEが、マグネシウムイオンとほぼ同じ水和半径のコバルトイオンやカドミウムイオンを通し、水和半径がやや小さいニッケルイオンを通さないことがわかっています。半径の大きな水和イオンを通して、ナトリウムのような小さな水和イオンを通さないのは不思議に思われるかもしれません。今回のMgtEの解析では分解能が高くないため、金属イオン識別機構について正確なことはいえませんが、たとえばカリウムチャンネルなどでは、TMドメインに抱え込まれているカリウムイオンは配位結合によって脱水和された状態です。つまり、輸送を完了させるには水和イオンが、いったん脱水和される必要があるのですが、一般に、脱水和はTMドメインがもつ酸素イオンと金属イオンがある程度近くないとおきず、このことが小さな水和イオンを通さない理由になっていると考えられます。

一方、同じくらいの水和半径をもつコバルトイオンやカドミウムイオンは、実験的にはTMドメインに結合して輸送されますが、実際の生体内では輸送されません。その理由は、生体におけるそれぞれの金属イオンの濃度にあります。生体内でMgtEの通過孔が閉じるには数ミリモラー程度の濃度が必要ですが、数十マイクロモラーほどの微量しか存在しないコバルトイオンやカドミウムイオンなどは、実際にはTMドメインに結合できないからです。こうして、同じ水和半径をもつ金属イオンのなかでも、1ミリモラー程度の高濃度で存在するマグネシウムイオンだけが輸送されることになるのです。

ND — 輸送が、基質であるマグネシウム自身によって制御されていたわけですね。

濡木 — そのとおりです。何らかの物質のトランスポーターの輸送制御が基質自身によって行われているタンパク質で、さらにセンサーとなるドメインまで解明されたのは、今回が初めてだと思います。同じようなポンプタイプのトランスポーターには銅や亜鉛を運ぶものもあり、MgtEと同じ仕組みで輸送されているのかもしれませんが、今、トランスポーター解析は世界中でちょっとしたブームを迎えているので、今後の進展が楽しみです。

ND — 今回の成果は、医療や創薬にどのように結びつくのでしょうか？

濡木 — 例えば、心疾患や神経疾患の原因解明や治療法の開発に役立つ可能性があると思います。ヒトのMgtEの通過孔は、ふだんは開いていて、マグネシウムイオンが過剰に流入する事態が生じると閉じるようなのですが、仮に、閉じっぱなしで開かなくなるとマグネシウムイオンが不足して心疾患が起きるのではないかと考えられます。また、神経細胞では細胞内がマイナスに、外側がプラスに保たれ、細胞内にプラスのイオンが流れ込んだ場合のみ神経の興奮が伝わります。仮にMgtEの通過孔が開きっぱなしになる異常事態が生じれば、興奮が伝わらなくなり、神経障害が起きると考えられます。今後、ノックアウトマウスなどによる解析が進めば、より具体的な成果が得られると思います。

ND — ありがとうございます。 ■

聞き手は西村尚子(サイエンスライター)。

1. Eshaghi, S. *et al. Science* **313**,354-357 (2006)
2. Toyoshima, C. *et al. Nature* **405**,647-55 (2000)
3. Toyoshima, C. *et al., Nature* **418**,605-611 (2002)
4. Toyoshima, C. *et al. Nature* **430**,529-535 (2004)
5. Toyoshima, C. *et al. Nature* **432**,361-368 (2004)
6. Hattori, M. *et al. Nature* **448**,1072-1075 (2007)