



2021年 9月 30日(木) BINDS-PDBj講習会
「PDBから見てわかるタンパク質の最新研究」

Gating-modifier toxin APETx1 による 電位依存性K⁺チャネル hERG 阻害機構の解析

大澤 匡範

慶應義塾大学薬学部

生命機能物理学講座

Molmil（モル見る？）でhERGの立体構造を見る

- 膜電位がかかっていない状態の構造
- Kvは4量体として機能する（Chain1, 2, 3, 4）
- 膜貫通領域と細胞内領域（色分け）
 - 細胞外ループは見えていない
- 膜貫通領域
 - Voltage-sensing domain (VSD): S1-S4
 - Pore domain (PD): K⁺選択性フィルターとゲート
- 膜電位によるゲート開閉制御
 - VSDのS4には正電荷を持つArgが3残基ごとに出現
 - VSD内部の酸性残基と相互作用
 - 細胞内側が負となる膜電位が形成されるとS4が細胞内側にシフト

↓

 - PDのS6に構造変化が伝播し、ゲートが閉じる
- 阻害剤、toxinはどこに結合するか

MolmilでAPETx1の立体構造(NMR構造)を見る

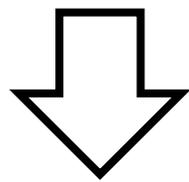
- 20~30構造の重ね合わせで表現される
 - NMRで得られた ^1H 間距離、2面角などの構造情報をすべて満たす構造を計算する。
 - 20~30個のランダムな初期構造から計算しても同じ構造に「収束」←構造決定成功！
 - 収束の度合いを、全構造を重ね合わせた際の原子座標のRMSDで表す 0.3~0.8 Å程度
- 20~30構造のうちの代表構造 or 20~30個の構造の平均構造を見る

MolmilでAPETx1の変異導入部位を見る

- 15個のAla変異体を作成
- Ala変異を導入した残基の側鎖を表示し、ラベルを付けた
- 変異導入残基をアミノ酸の性質により色分け
 - 疎水性：緑
 - 酸性：赤
 - 塩基性：青
 - 親水性：黒
 - 変異を導入していない残基：白
- APETx1の活性に重要な残基
F15, Y32, F33, L34 ...分子の片側に局在

hERG – APETx1 ドッキングモデルを見る

- 膜電位がかかっていない状態の構造 (up model)
 - 重要な残基が露出していないためドッキングできず
- S4がヘリックス 1 巻き下がった構造 (1-helical-turn down)
- S4がヘリックス 2 巻き下がった構造 (2-helical-turn down)
 - hERGのF508, E518, I521が近接・表面に露出
 - APETx1のF15, Y32, F33, L34を受け入れるポケットが形成



変異実験結果を説明するモデルを構築

静止構造を安定化するAPETx1の阻害機構を示唆