

News Release



令和5年12月18日

各報道機関文教担当記者 殿

電位依存性 Na^+ チャネルの意外な構造と 分子間相互作用の発見！

金沢大学ナノ生命科学研究所（WPI-NanoLSI）／新学術創成研究機構の角野 歩助教，WPI-NanoLSI／JST さきがけ研究者の炭竈享司特任助教，和歌山県立医科大学の入江克雅准教授の共同研究グループは，**電位依存性 Na^+ チャネル(Na_v)（※1）のこれまで不明だった室温で動いている構造を高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）（※2）によって解明し，さらに予期せぬチャネル分子間の相互作用の存在を発見しました。**

電位依存性 Na^+ チャネル (Na_v) は生体の活動に必要な電位（活動電位）を発生するため，生体にとって不可欠な膜タンパク質です。そのため， Na_v の構造と機能の関係を明らかにする研究が広く行われてきましたが，細胞膜内で機能している際の Na_v の構造や， Na_v 同士の相互作用には不明点が多く残されていました。

このたび本研究グループは，室温でのタンパク質の動態観察が可能な高速 AFM を用いることで， Na_v が閉じると Na_v の電位センサーは Na_v から離れて二量体を形成することを解明しました。さらに，理論計算により，この二量体化は現実の神経においても起きうることを明らかにし，二量体化がこれまで不明であった Na_v の急峻な活動電位発生分子実態である可能性を示しました。

これらの知見は将来，活動電位の波形の異常を修正する薬剤の一つの開発指針となることが期待されます。 本研究成果は，2023年12月19日午前10時（英国時間）に国際科学雑誌『*Nature Communications*』に掲載される予定です。

【研究の背景】

私たちの体の中では、常に活動電位という電気信号が駆け巡っており、そのおかげで私たちは考えたり、身体を動かしたりしています。例えば、心電図は心臓での活動電位、脳波は脳での活動電位を計測したものです。活動電位を形作るためには、細胞膜を横切るイオンの透過性（イオン種ごとの透過しやすさ）が時々刻々と精密に変化する必要があります。細胞膜に存在する電位依存性 Na^+ チャンネル (Na_v) という膜タンパク質は、細胞膜内外の電位の変化に応じて Na^+ の通路を開閉し、細胞膜の Na^+ 透過性を制御します。 Na_v の開口によって活動電位の形成が開始されるため、 Na_v が働く仕組みを解明することは生命科学分野の最重要課題の1つと言えます。

Na_v が働く分子メカニズムを理解するため、これまでに、X線結晶構造解析や低温電子顕微鏡の単粒子解析などといった構造解析が盛んに行われてきました。そしてそれらの先行研究の結果から、 Na_v は四量体を形成して中心にイオンの透過路を形作り（ポア領域）、その周囲には電位センサーと呼ばれる膜電位を感知する領域が、常にぴったりと結合していると考えられてきました（図1a）。しかし、さまざまな技術的制約により、 Na^+ の通路が閉じた状態（閉状態。電気刺激のない通常の状態では閉じている）の分子構造は、不明点が多く残されており、特に室温で動いて機能している Na_v の構造は観察されていませんでした。また、 Na_v が協同的に開くことで活動電位が急峻に発生するという説がありますが、どのような Na_v 間の相互作用が協同性を生むのかは、ほとんど分かっていませんでした。今回我々は、これまでと違った新しい手法での Na_v の構造観察が、これらの問題の解決につながると考えました。そこで、室温での膜タンパク質の表面構造とその動態をナノスケールで観察することができる高速原子間力顕微鏡（高速AFM）を用いて、閉状態および Na^+ の通路が開いた開状態での Na_v の構造を可視化しました（図1b）。

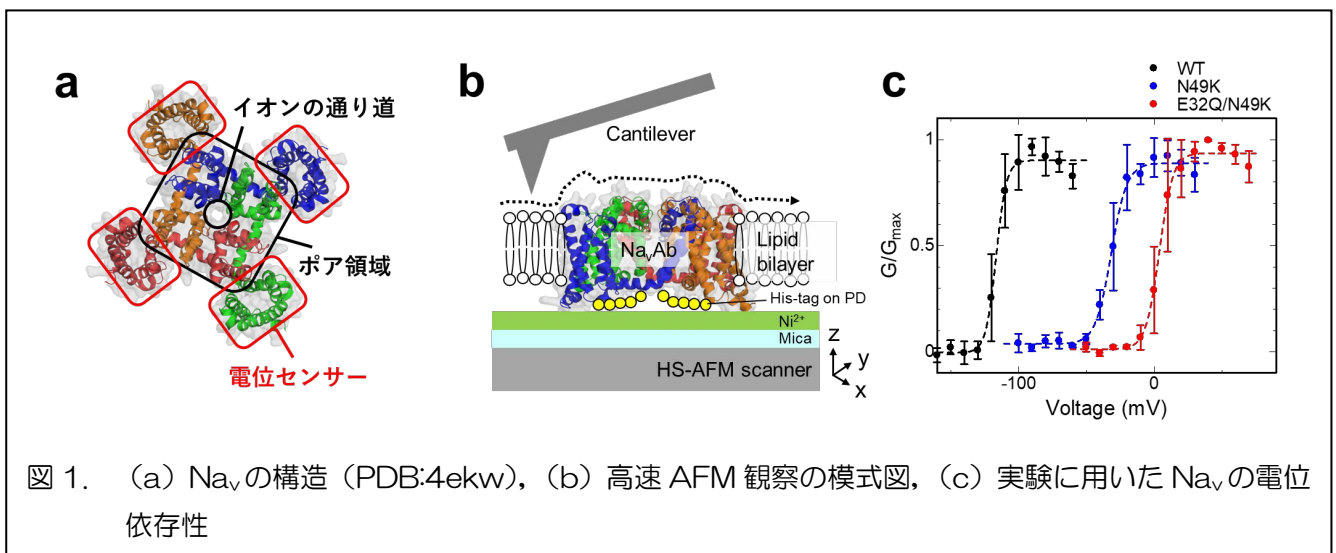
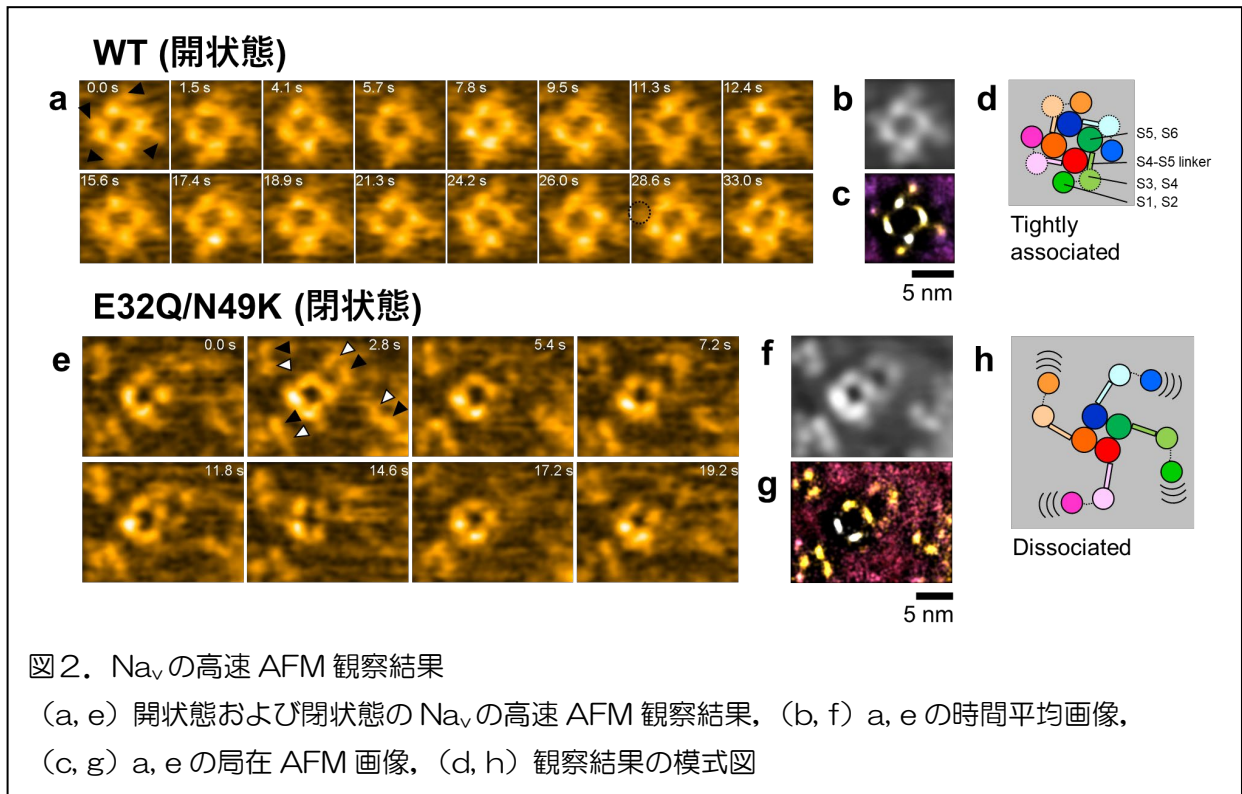


図 1. (a) Na_v の構造 (PDB:4ekw), (b) 高速 AFM 観察の模式図, (c) 実験に用いた Na_v の電位依存性

【研究成果の概要】

閉状態および開状態での Na_v の構造を観察するために、遺伝子操作によって電位依存性を変化させた変異体の Na_v を作りました（図1c）。0 mVにおいて野生型では開状態になり、E32Q/N49K という変異体では閉状態になります。これらの Na_v を単離精製し、細胞膜を

模倣した脂質二分子膜に再構成して高速 AFM 観察を行いました。まず、どちらの変異体においても 4 つの粒子が四角に並んだポアドメインに相当する構造が観察されました。ここまでは想定内でしたが、興味深いことに、開状態の Nav では電位センサーに相当する粒子がポアドメインにぴったりと結合していたのに対し (図 2a-d), 閉状態の Nav では、電位センサーがポアドメインから大きく離れていることが分かったのです (図 2e-h)。



さらに、もう 1 つ予期せぬ発見がありました。閉状態の Nav を観察していると、まるで電位センサーが 2 つくっついたような構造が多数観察されたのです (図 3a)。生体内には電位センサーのみで機能する H⁺チャネル (H_v) が存在しますが、H_vは生体内で二量体を形成することが分かっています。我々は、既に報告されていた H_vの二量体の構造と、Nav の電位センサードメインの構造を組み合わせる電位センサーの二量体のモデルを作成し (図 3b), 高速 AFM で観察された構造と比較しました (図 3c, d)。すると両者は非常によく似ていて、高速 AFM で発見した構造は、電位センサーの二量体と考えられると結論付けました。これらの情報をまとめると、電位センサードメインは、閉状態でポアドメインから解離するだけでなく、チャネル間を架橋するように二量体を形成するということです。有髄神経における Nav は高密度 (1500 分子/μm²) に集積することが分かっており、仮に今回発見した静止状態の Nav の分子サイズ (直径約 20 nm) がランダムに分布すると考えても、8 割以上の Nav がほかの Nav と相互作用すると予測されました (図 3e, f)。つまり、今回発見した Nav の電位センサーの二量体化は、生理的条件下でも十分起こりえるものであり、Nav の協同的な開口機構と急峻な活動電位発生の分子実態である可能性があります (図 4)。

【今後の展開】

活動電位の波形は、わずかに変形するだけでさまざまな疾患につながるということが分かっています。本研究により、Nav の協同的活性化の分子機構が提案できたことで、活動電位の波形を修正する薬剤開発などへの新たな開発指針を提供できることが期待されます。

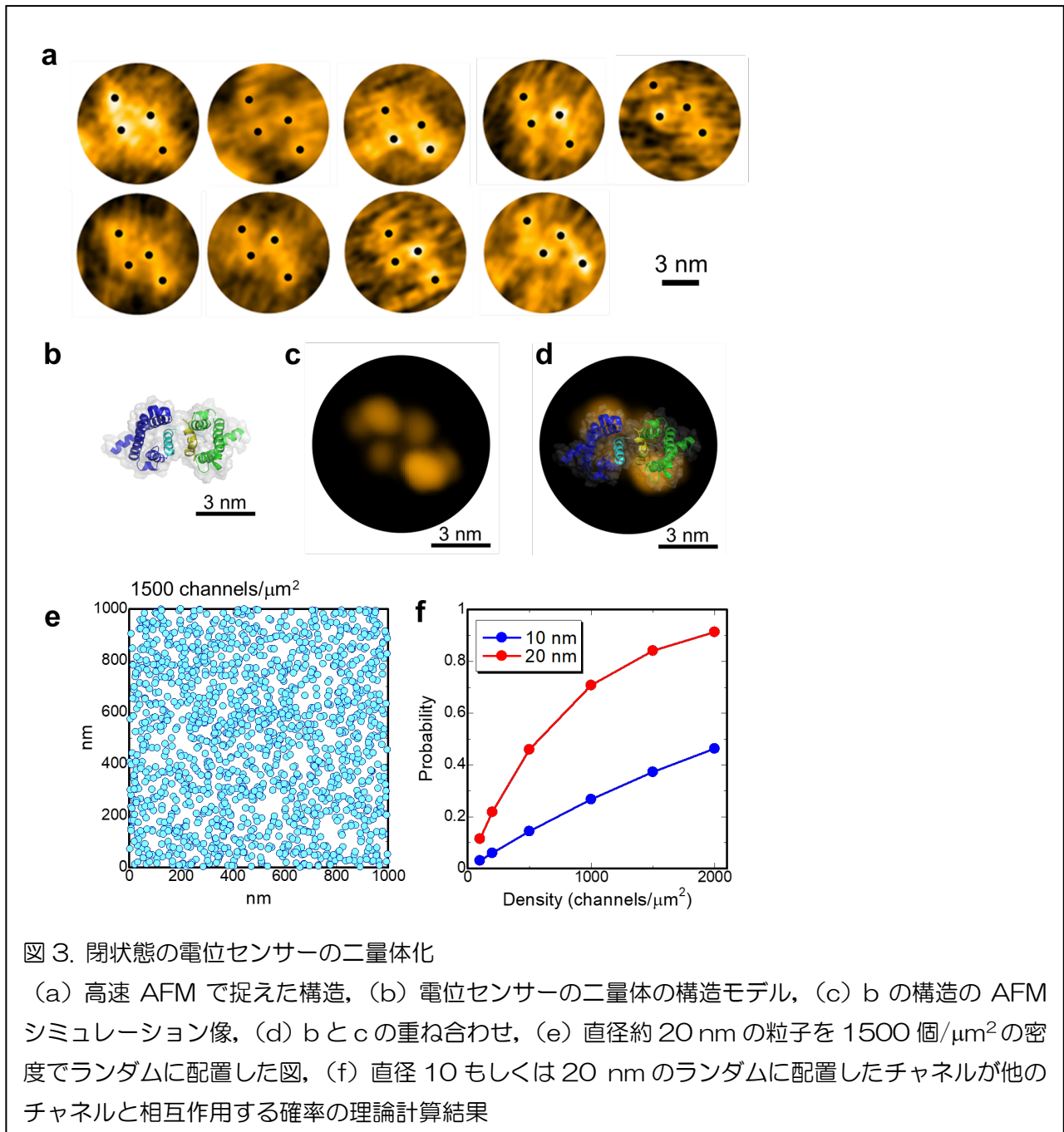
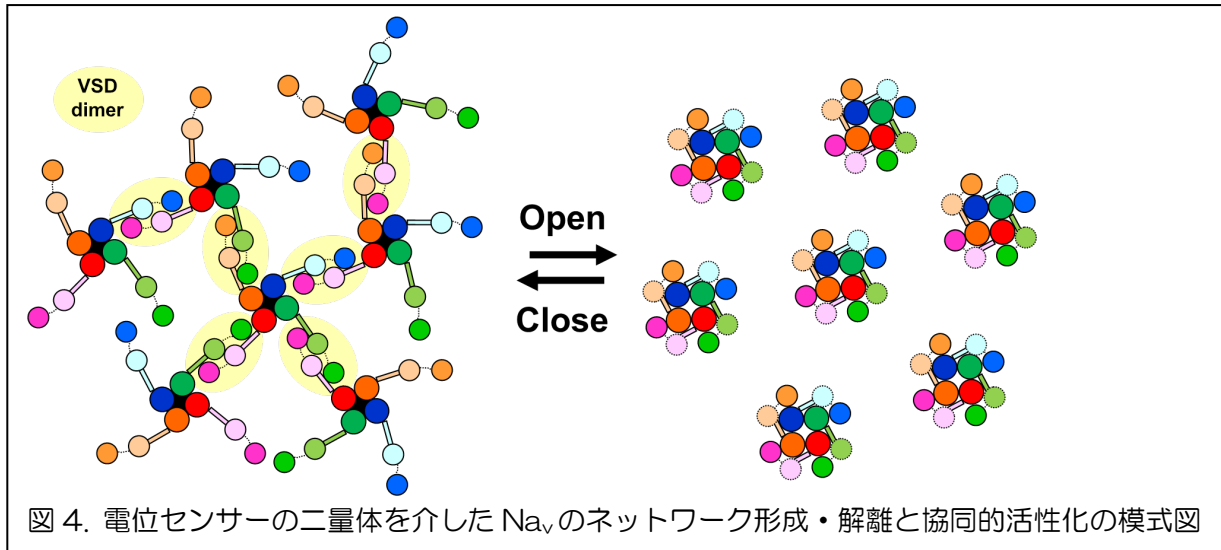


図 3. 閉状態の電位センサーの二量体化

(a) 高速 AFM で捉えた構造, (b) 電位センサーの二量体の構造モデル, (c) b の構造の AFM シミュレーション像, (d) b と c の重ね合わせ, (e) 直径約 20 nm の粒子を 1500 個/μm² の密度でランダムに配置した図, (f) 直径 10 nm もしくは 20 nm のランダムに配置したチャンネルが他のチャンネルと相互作用する確率の理論計算結果



本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業基盤研究 B (22H01919)、挑戦的研究 (萌芽) (22K19290)、基盤研究 C (20K09193)、若手研究 B (17K17795)、文部科学省世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)、公益財団法人住友電工グループ社会貢献基金、公益財団法人発酵研究所一般研究助成の支援を受けて実施されました。

【掲載論文】

雑誌名 : *Nature Communications*

論文名 : Voltage sensors of a Na⁺ channel dissociate from the pore domain and form inter-channel dimers in the resting state

(静止状態の電位依存性 Na⁺チャネルの電位センサーはポアから解離し、チャンネル間で二量体化する)

著者名 : Ayumi Sumino, Takashi Sumikama, Mikihiro Shibata, Katsumasa Irie
(角野 歩, 炭竈 享司, 柴田 幹大, 入江 克雅)

掲載日時 : 2023 年 12 月 19 日午前 10 時 (英国時間) にオンライン版に掲載

DOI : 10.1038/s41467-023-43347-3

URL : <https://www.nature.com/articles/s41467-023-43347-3>

【用語解説】

※1 電位依存性 Na⁺チャンネル (Nav)

細胞内外の電位差に応じて細胞膜の Na⁺透過を制御する膜タンパク質。Nav が活性化することで活動電位が発生する。

※2 高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM)

柔らかい板バネの先に付いた針の先端で試料に触れ、試料の表面形状を可視化する顕微鏡。針と試料の水平方向の相対位置を変えながら試料表面の高さを計測することにより、試料の表面形状を可視化する。また、試料の表面を高速（最速 33 フレーム/秒）にスキャンすることにより試料の動きを可視化することができる。

【本件に関するお問い合わせ先】

■研究内容に関すること

高速 AFM 実験に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所 助教

角野 歩 (すみの あゆみ)

TEL : 076-234-4555

E-mail : sumino@staff.kanazawa-u.ac.jp

シミュレーションと理論計算に関すること

金沢大学ナノ生命科学研究所 特任助教・JST さきがけ研究者

炭竈 享司 (すみかま たかし)

TEL : 076-234-4576

E-mail : sumi@staff.kanazawa-u.ac.jp

試料調製に関すること

和歌山県立医科大学 准教授

入江 克雅 (いりえ かつまさ)

TEL : 073-488-1837

E-mail : kirie@wakayama-med.ac.jp

■広報担当

金沢大学ナノ生命科学研究所事務室

米田 洋恵 (よねだ ひろえ)

今永 藤子 (いまなが ふじこ)

TEL : 076-234-4555

E-mail : nanolsi-office@adm.kanazawa-u.ac.jp

和歌山県立医科大学 事務局広報室

TEL : 073-441-0710

E-mail : kouhou@wakayama-med.ac.jp