

28Q-pm12

胃プロトンポンプのGln-161、Lys-164、Glu-345の役割

○山内 理嗣¹、内藤 晴之¹、市川 友彦¹、森井 孫俊¹、高橋 佑司¹、竹口 紀晃¹、
酒井 秀紀¹ (¹富山大医薬)

【目的】電荷移動によるプロトン輸送は、 H_3O^+ の形でのプロトン輸送と等価である。三次元構造の解析から胃酸分泌の最終段階を担っている胃プロトンポンプ(胃 H^+ , K^+ -ATPase)のプロトン輸送は電荷移動によるものと推測された。この推定電荷移動路を構成するアミノ酸へ変異を導入し、プロトンポンプ活性に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】プロトンポンプ α 鎖の三次元構造はSR Ca^{2+} -ATPase を基にホモロジーモデリングによって構築し、エネルギー最小化と分子動力学計算で構造を最適化した。 α 鎖の電荷移動路のアミノ酸に変異を導入して β 鎖と共に HEK293 細胞に安定発現させ、変異が膜画分のプロトンポンプ活性におよぼす影響を調べた。

【結果と考察】プロトン結合 E_1 コンフォメーションの α 鎖では、細胞質側 stalk の Lys-164 から Gln-161 を経由して、第2カチオン結合部位の Glu-345 までアミノ酸側鎖の水素結合鎖を経由する電荷移動路が形成されていることを見出した。電荷を中継する Gln-161 を Leu に置換すると胃プロトンポンプ活性はほとんど認められなくなった。我々はすでに、K164A 変異により、プロトン親和性減少に伴い、活性が約 30% まで減少すること、また E345A 変異で活性が完全に消失することを明らかにしている。得られた結果はこれら 3 個のアミノ酸からなる電荷移動路が胃プロトンポンプのプロトン輸送に強く関与していることを示すものである。