原子レベルで見るカイニン酸型グルタミン酸受容体を制御する化合物の結合様式とその選択性

茨城大学フロンティア応用原子科学研究センター 海野昌喜

東北大学大学院生命科学研究科 佐々木 誠

北海道大学大学院水産科学研究院 酒井隆一

東北大学多元物質科学研究所 齋藤正男

Masaki UNNO, Makoto SASAKI, Ryuichi SAKAI and Masao IKEDA-SAITO: Binding Modes and the Selectivity of the Compounds Bound to the Kainate-Type Glutamate Receptors at Atomic Level Resolution

Kainate receptors (KARs) are members of the ionotropic glutamate receptors (iGluR) that play variety of roles in the mammalian brain. Because KARs are comprised of five different isoform proteins, isoform selective compounds are indispensable tools in physiological researches. Dysiherbaine (DH) and neodysiherbaine A (NDH), natural toxins found from marine sponges, were shown to be potent and isoform-selective agonists for KARs. To understand structure-activity relationship of DH and NDH, numbers of analogues are synthesized, and their pharmacological activities have been evaluated in detail. Here, we determined the crystal structures of human KAR isoforms, GluK1 and GluK2, ligand-binding domain in complex with the DH analogues at high resolution. From these structures, we elucidated the relationships between the binding affinity and the molecular structure of the compounds. We also demonstrated differential recognition by some of the DH analogues of closely related isoforms GluK1 and GluK2. Further, we found that neither degree of the domain closure nor twist motion of domains directly correlated to agonist efficacy of the ligands.

1. はじめに

イオンチャネル型グルタミン酸受容体 (iGluR) は、ホモまたはヘテロ四量体で構成されるイオンチャネルである。グルタミン酸の結合による構造変化で、チャネルの開閉により陽イオンを細胞内へ導入し、活動電位を発生させ、速い興奮性の神経伝達を担う (図1)。

iGluR には、少なくとも 18 種類のアイソフォームが存在し、種々のアゴニストに対する感受性の違いにより、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 型、(S)-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸 (AMPA) 型、カイニン酸 (KA) 型の三種のサブタイプに分類されている。iGluR の生理機能は、速い興奮性の神経伝達、記憶や学習の細胞レベルにおける基盤と考えられているシナプス可塑性や痛みの伝達、虚血などの病的条件下における神経細胞死など、非常に重要で多岐にわたることがわかってきている。¹⁻⁴⁾ これまで、AMPA 型受容体 (AMPA) は脱分極を引き起こす興奮性神経伝達を主に司ること、また、NMDA 型受容体 (NMDAR) は記憶や学習の形成に重要な受容体群であることがわかってきている。一方、KA 型

iGluR (KAR) ⁵⁾ の生理作用は中心的なものではなく、主にシナプス伝達の微調整を担っていると考えられている。^{6,7)} KAR には、GluK1 ~ 5 のアイソフォームが存在することはわかっているものの、それらの生理機能について

図1 iGluR の全体構造の模式図。(Schematic drawing of overall structure of iGluR.) ホモまたはヘテロ四量体で存在する。点線枠内は単量体の構造。

図2 DH構造類縁体(一部)の化学構造。(Chemical structures of some DH analogues.)

表1 DH構造類縁体の K_i 値。(K_i values for the DH analogues.) K_i 値は [³H] カイニン酸の置き換えを基に実験的に求めた解離定数。

K_i (nM)	L-glutamate	DH	NDH	MSVIII-19	8-deoxy-NDH	9-deoxy-NDH
GluK1	290	0.5	7.7	128	1.5	169
GluK2	1080	1.3	33.3	>100,000	48,000	>100,000

は不明な点が多く、AMPAやNMDARに比べて、研究が立ち遅れていた。

個々のアイソフォームの機能解明のためによく使われる手法は、アゴニスト、アンタゴニストの利用である。少量の化合物を使って、iGluRサブユニットを選択的に活性化や不活性化することができれば、それらの機能解明に大きく寄与することができる。海藻類から、カイニン酸⁸⁾やドーモイ酸⁹⁾などの興奮性アミノ酸^{10),11)}が単離されており、グルタミン酸受容体の機能解明に必須のツールとして、その発展に貢献してきた。^{10),11)}しかし、それらのiGluRアイソフォームに対する特異性は必ずしも高くないため、¹⁾アイソフォーム選択的なアゴニストおよびアンタゴニストが必要とされてきた。強力かつ選択的な化合物が受容体研究に貢献する可能性は大きく、これらの開発は重要な課題である。

ダイシハーベイン(DH)とネオダイシハーベインA(NDH)は、ミクロネシア産の海綿 *Lendenfeldia chondrodes* から単離された天然のアミノ酸である。¹²⁾⁻¹⁴⁾ DHやNDHがKARのGluK1とGluK2に非常に高い親和性を有するアゴニストであることが見出されてからは、収量の確保やKARの機能解析のため、構造類縁体を含む合成が行われた。¹⁵⁾ DHとNDHは8位炭素に結合した置換基が異なる(DH; メチルアミノ基, NDH; ヒドロキシ基)だけであるが(図2), GluK1, GluK2に対する親和性には違いが見られた(表1)。^{16),17)} 合成されたDH構造類縁体の中では、8位と9位の官能基を両方除去したMSVIII-19(8,9-dideoxy-NDH)がマウスを昏睡状態に導く興味深い活性を示し、GluK1に選択的に結合し、アンタゴニストとして機能すること(図2), さらに随腔内投与で鎮痛作用を示すことも示された。¹⁷⁾⁻¹⁹⁾ 後の研究で、MSVIII-19は、ごく弱い部分アゴニストであるということが示され、²⁰⁾ これらの一連の研究結果から、DH構造類縁体のアゴニスト活性には8位と9位の官能基が重要であることが示された。その後、8位OHを除去した8-deoxy-NDHや9位OHを除去した9-deoxy-NDHが合成され(図2),¹⁵⁾ それぞれの親和性(表1)と生物活性が評価された。²¹⁾

NDHの8位を除去した8-deoxy-NDHは、NDHと比べてGluK1に対する親和性は落ちないが、GluK2に対しては、大きく親和性が低下した(表1)。9位OH基を除去すると、GluK1に対する親和性もやや落ちるが、GluK2には結合しなくなる(表1)。これらの化合物が図2に示すように非常に似た化学構造であり、GluK1とGluK2のリガンド結合ドメインのアミノ酸配列の相同性(identity)が80%以上あるという事実を考えると、その現象は非常に興味深い。そこで、NDHを中心としたこれらDH構造類縁体が、どのようにGluK1やGluK2に結合しているかを明らかにすることを目的に本研究を行った。²²⁾

最近、AMPAの全長四量体構造が3.6 Å分解能で解明され、「ナノマシーン」ともいえる受容体の全貌が明らかにされた。²³⁾ イオンチャネルの開口、脱感作、リガンド分子の開放という一連の「動き」がグルタミン酸のような小分子の結合をきっかけに引き起こされ、繰り返されるのは驚くべき現象といえる。一方、近年相次いで発表されたiGluRのリガンド結合部位の構造生物学的研究は、高分解能であり、受容体とリガンドの結合様式や動きを解明するために欠かせない情報を提供してきた。²⁴⁾ 本研究ではこれまでにない構造と活性をもつNDHとその誘導体を用いることでiGluRのダイナミクス解明に資する新たな知見が得られること、さらに、①アイソフォーム選択的 ②高親和性 ③アゴニストやアンタゴニストとしてiGluRを制御する、化合物を設計するための情報が得られることが期待された。

2. ヒト GluK1 リガンド結合ドメインの結晶

筆者らが本研究を始める時点で、ラット GluK1, GluK2のリガンド結合部位の構造はすでに報告されていた。^{20),24),25)} iGluRの構造は、大きく分けるとN末端ドメイン、リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメインの3つの要素から構成される(図1)。リガンド結合ドメインは、N末端ドメインと1番目の膜貫通ヘリックスの間のS1と2番目の膜貫通ヘリックスと3番目の膜貫通ヘリックスの間のS2という一次配列上離れた2つの領域から構成されている(図1点線枠内)。^{26),27)} 本研究では、先行するラット

図3 GluK1への化合物の結合様式。(Binding modes of the compounds in GluK1.) (A) NDHの結合様式. 多くの水素結合で安定化されている. (B) NDHの8位OH基近傍の構造. Pro501やGlu426との直接的な相互作用はない. また, Ser726とOH基とは3.4 Å離れており, 効果的な水素結合はできない. (C) DHの結合様式. メチルアミノ基はPro501やGlu426と相互作用しており, また, アミノ基とSer726が2.8 Åの距離で水素結合をしている. NDHとDHは, 構造は似ているが, このように結合様式に違いが見られた.

GluK1リガンド結合ドメインの構造解析研究に倣い, ヒト脳由来GluK1のリガンド結合ドメイン(hGluK1-S1S2)を対象とし, クローニング・発現・精製し, 化合物結合様式を解明することとした.

まずは, hGluK1-S1S2の結晶を得ることから始めた. S1とS2の両方をクローニングし, 二残基分のリンカーでつなげたコンストラクトの発現を試みたが, 可溶画分に試料を得ることができなかった. そこで, シャペロニンとの共発現系に変え, 温度を低くするなど培養条件・精製時の緩衝液の条件の最適化を行ったところ, 8 L培養で5~10 mg程度のhGluK1-S1S2試料を得ることに成功した. 最初の結晶は, 試薬の定量ミスから高濃度の2-メルカプトエタノールを含んだ条件で得られた. その結晶は空間群C2に属し, 非対称単位中に1分子のhGluK1-S1S2を含んでいた. 形も良く綺麗な結晶だったが, その後に再現良く得られなかったため, 別の結晶化条件を探索し, 還元剤が含まれていない結晶化条件を確立した. また, 新しく得られた結晶は, 見た目は良くないものの, 軒並み高分解能(1.5 Å)の回折を示した. 細胞外に存在するドメイン(図1)の構造解析には, 高濃度の還元剤が入っている条件は適さない. 詳細な議論には, 結果的に後者の構造が適していた. その結晶は空間群P1に属し, 非対称単位中に2分子のhGluK1-S1S2を含んでいた. DH構造類縁体は, ソーキングでは, 内在的に結合していたL-グルタミン酸と置き換わらなかった. 共結晶化で複合体構造を得た. 極性の違いや親和性の違いからMSVIII-19(図2)の場合だけは, 添加剤としてアスパラギン酸が必要であった.

3. 原子レベル構造から明らかになった結合様式と化合物立体構造の違い

3.1 DH構造類縁体のGluK1への結合

hGluK1-S1S2と, DH, NDH, MSVIII-19, 8-deoxy-NDH, 9-deoxy-NDHそれぞれとの複合体の結晶構造解析を行った.

図4 NDHと9-deoxy-NDHの立体配座の違い.(Conformational difference between NDH and 9-deoxy-NDH.) 左; NDH, 右; 9-deoxy-NDH. NDHはイス形で9-deoxy-NDHはねじれ舟形になっていた.

その中で, すべての化合物との比較対象となるNDHのhGluK1-S1S2中での結合部位の図を代表として示す(図3A). NDHは, 多くの水素結合や疎水性相互作用により結合を安定化されているが, 8位のOH基が(Glu723を除く)GluK1のどのアミノ酸からも遠く, 結合には寄与しない(図3A, B). これは, 8位の置換基がない8-deoxy-NDHの親和性が, NDHに比べて低下しない(表1)ことを説明するものである. DHとNDHの親和性の違い(表1)は, 8位の置換基の性質と構造の違いによる相互作用様式の違いとそれに伴う小さな構造変化による(図3B, C). 結合様式の違いからNDHの8位付近にはDH結合時には見られない水分子(水1)が見られた(図3A, B). DHの8位メチルアミノ基は, 周囲のアミノ酸と直接的な水素結合(Ser726との距離は水素結合距離の2.8 Å)と疎水性相互作用をしているが, NDHが結合した場合は, 代わりに入り込んだ水1がSer726などと水素結合を形成している(図3).

構造解析を行って驚いたことは, 化合物によっては立体配座に大きな違いが見られたことである. 例えば, MSVIII-19結合型hGluK1-S1S2の構造では, MSVIII-19がDH, NDHに比べて平面的になっていた.^{20,22)} これは, 9位のOH

基とグルタミン酸骨格由来の γ カルボン酸との間にある分子内相互作用を失うためと考えられる。さらに興味深いことに、9-deoxy-NDH 結合型では、8位OH基が、NDH中の9位OH基の代わりに、 γ カルボン酸と水素結合を形成していた(図4)。そのため、ほかの化合物が単独でも安定なイス形配座 (chair form) (図4左)であったのに対し、9-deoxy-NDHだけは、ねじれ舟形配座 (twisted boat form) (図4右)であった(実際には少量イス形配座も混じっているようである)。9位OH基を失うことは、Glu723の主鎖アミノ基との分子間の水素結合(図3A)を失うというだけでなく、化合物分子内の水素結合を失うことにより化合物自体の立体配座が変化し、GluK1のリガンド結合ポケットの形状に適さなくなってしまうといえる。とはいえ、9-deoxy-NDHもMSVIII-19も、GluK1に対してはまだ比較的高い親和性を保持している(表1)。それなのになぜGluK2には結合しなくなるのか? という疑問がこの時点では残ったままであった。

3.2 NDHのGluK2への結合 (GluK1への結合様式との違い) から見るDH構造類縁体の結合選択性

hGluK1-S1S2と一連のDH構造類縁体との複合体の構造解析だけでは、化合物の選択性については推測しかできない。そこでわれわれは、GluK2のリガンド結合ドメイン(hGluK2-S1S2)とNDHの複合体の結晶構造解析を行うことにした。

hGluK2-S1S2の結晶の空間群は $P2_1$ であり、hGluK1-S1S2結晶とは異なる。ともに非対称単位には二分子のリガンド結合部位を含んでいるが、二分子の相対位置は両者ではまったく異なる。しかし、単量体として見た場合には、両者の全体構造は非常に似ている。また、NDHの結合様式も当然似ていた。両者のNDH結合に関与するアミノ酸の違いはたった3残基であるが、この3残基の違いが、8-deoxy-NDH、9-deoxy-NDH、MSVIII-19のGluK1、GluK2への結合に劇的な選択性を生み出していることが明らかになった。

GluK1のThr503は、NDHのグルタミン酸骨格と水素結合している重要な残基であったが(図5A)、GluK2でそれに対応するのはAla487である(図5B)。GluK1のThr503の側鎖はGlu723とも水素結合を形成しているが、GluK2のAla487はそれらの水素結合を形成し得ない。したがって、GluK2とNDHのグルタミン酸骨格側の相互作用は、GluK1の場合と比較して弱い。また、GluK1のGlu723とそれに対応するGluK2のGlu707のコンフォメーションがやや異なる。そのため、それらと水素結合を形成しているNDH自体のコンフォメーションもGluK1内とGluK2内では異なる。その微妙なコンフォメーションの違いが、8位のOH基とポケット内部のアミノ酸との水素結合に変化をもたらしている。GluK1内ではSer726と8位OH基との距離が3.4 Åあり(図3、図5A)、効果的な水素結合を

図5 GluK1とGluK2のNDH結合様式の違い。(Differences in binding modes of NDH between GluK1 and GluK2.) (A) GluK1中でNDHはグルタミン酸骨格側で安定化されており、二環性構造は結合にあまり関係していない。(B) GluK2中では、NDHのグルタミン酸骨格側の相互作用はGluK1中と比べ減り、結合は不安定になる。一方、NDHの8位OH基が近傍のセリンと水素結合を形成し、結合に重要な役割を果たしている。また、Asn690はNDH結合には阻害的に働いている。強調するためにGluK1とGluK2で異なるアミノ酸残基をball&stickで描いた。

形成するには遠すぎるのに対し、GluK2内では、それに対応するThr710と8位OH基との距離が2.7 Åと理想的な水素結合距離である(図5B)ため、NDHは安定化されていると考えられる。つまりNDHは、GluK2の中では、GluK1内と比較して、自身のグルタミン酸骨格側での結合は弱い、二環性構造側では8位OH基を介して安定化されている。これはNDHの8位OH基が結合の安定性に寄与しないGluK1とは対照的である。

もう1つ重要なのは、GluK1のSer706とGluK2のAsn690(図5、図6)の違いである。L-グルタミン酸やカイニン酸を結合したGluK2では、Asn690の側鎖は結合した化合物側を向いているが、NDHが結合したときのみ、外側を向くようにコンフォメーション変化している(図6)。そのよ

図6 化合物を結合したときのGluK2のAsn690のコンフォメーション変化。(Conformation change of Asn690 when GluK2 binds the compounds.) (A) NDHを結合したとき、GluK2のAsn690は結合ポケットの外側に向く。Asn690はGlu409と水素結合を形成していない。(B) カイニン酸を結合したとき、Asn690は結合ポケットの内側(結合した化合物側)を向いている。Asn690はGlu409と水素結合を形成する。図には示さないがL-グルタミン酸を結合したときも同様である。

うに構造変化しなければNDHは納まらない。もし、GluK2でもそこがGluK1と同様に側鎖の小さなセリンなら立体障害にはならず、構造変化は必要ない。

これらの構造的特徴をまとめると、

- ①NDHの8位OH基はGluK1の中では結合安定化に寄与しないが、GluK2では重要な水素結合を形成する。
- ②反対に、NDHのグルタミン酸骨格側での結合安定化は、GluK2では、GluK1に比べて弱い。
- ③GluK2では、NDHの二環性構造がAsn690側鎖と近く立体障害になっており、NDHが結合するのに不利に働いている。GluK1ではそこが小さなセリンであり、NDHの結合を阻害しない。

8位のOH基が存在することでNDHはAsn690の回転を惹起しGluK2と安定な結合を形成するが、それを除去す

ると、Asn690の回転が起らず、GluK2との安定な結合は難しくなってしまう(表1)。8-deoxy-NDHは、グルタミン酸骨格側の弱い相互作用と9位OH基による水素結合のみでかろうじてGluK2に結合するのだらうと推測される。9位のOH基を除去した場合は、8位OH基が動きタンパク質側との水素結合も失ううえ、化合物自体の立体配座変化(図4)により、Asn690との衝突の影響がより大きくなり(Asn690が構造変化をしたとしてもまだ狭い)、GluK2には結合できなくなってしまう(表1)と考えられる。

3.3 チャンネル活性化機構は論じられるのか

われわれの一連の構造解析により、DH構造類縁体のGluK1とGluK2に対する親和性や選択性に関する化合物の構造的要因については明らかにすることができた。加えて、化合物設計には、化合物によるiGluRの活性化・不活性化機構を解明することが重要である。MSVIII-19は実質アンタゴニストであるが、ほかのDH構造類縁体はアゴニストである。この活性の違いを引き起こす構造的要因がわかれば、合理的にアゴニストやアンタゴニストを設計・開発することに大きく寄与できる。

AMPAの全長四量体構造では、リガンド結合ドメインは二量体—二量体(dimer of dimer)の疑似二回対称を形成しており、膜貫通ドメインは疑似四回対称をもっていることがわかった。²³⁾ この結果は、リガンド結合ドメインが二量体を形成し、リガンド結合時の分子間の動きによりチャンネルの開口を誘起するという、これまでの説を立証している。^{28),29)} しかし、今回の解析の過程では、同じhGluK1-S1S2でも異なった結晶系の結晶が得られたこと(そのうちC2の結晶は、非対称単位に一分子しか含まない)、hGluK1-S1S2とhGluK2-S1S2を二量体としてみるとまったく異なった構造であること、ラットのものととの構造比較でも二量体構造はまったく異なること、などから、KARはAMPAに比べて多様な対称性を生じる可能性がある。KARにおいて、この情報が「KARとAMPAとの違い」を解明するうえで不可欠なものになるかもしれない。これまでの研究結果は、アゴニストがリガンド結合ドメインに結合することでドメインが閉じ(“clam shell model”),その構造変化がチャンネルドメインに伝わり、チャンネルの開口を引き起こすという考え方を支持していた。³⁰⁾ アンタゴニストは、逆に、リガンド結合ドメインを開いた構造に保ち、チャンネルを閉じた状態にするという機構である。実際に、AMPA受容体全長四量体構造では、アンタゴニストの結合で、clam shellは開いた構造で安定化し、チャンネル部位は閉じている。²³⁾ また、アゴニスト効率の異なる化合物における「開口角度」と相関するデータもある。しかし、最近Frydenvangらの構造解析²⁰⁾ および今回われわれが得た結果²²⁾ は、clam shellの開口度とアゴニストの効率が必ずしも一致しないことを示した。すなわち、アゴニスト効率の高いDHとごく弱い部分アゴニストであるMSVIII-19

は両者とも「閉じた」構造を与えたのである。最近AM-PARとその部分アゴニストを用いた研究では、リガンド結合部位を閉じるような大きな動きが関係しなくても、ドメイン同士の小さな“ツイスト”と呼ばれる、ねじれるような動きがチャネルの活性化・不活性化に関係するという説が提唱された。³¹⁾そこで、われわれの構造の“ツイスト”を測定したが、化合物間の差は誤差範囲に留まっていた。さらに、分子動力学を用いた計算科学により、Glu409とAsn690との間の水素結合(<3 Å)が、アゴニストによる作動の鍵であるという考えも提唱されたが、²⁰⁾アゴニストであるNDHが結合したGluK2においては、その水素結合は確認できなかった(3.9 Å)ことから、その説も必ずしも一般的でないことが示された。したがって、今回の構造解析では、DH構造類縁体によるKAR活性化・不活性化機構についてはまだ解明すべき問題があることを提起した。すなわち、clam shellモデルやツイスト機構などに加えて何らかの「チャネルを動かす」メカニズムが存在する可能性が示されたのである。これは、非常に特殊な化合物ともいえるDH、NDHを用いたことで初めて示された。

4. おわりに

「たった3残基の違いで、同じ化合物の結合に選択性が出る。」これは原子レベルの構造解析だからこそ得られた知見である。これらの化合物を雛型に、さらに特異な選択性や機能をもつ化合物のデザインが可能となった。

サブタイプ間の結合様式や結合による反応の違いや、DH構造類縁体がKARを制御する機構を原子レベルで解明しようと思えば、構造未知であるKAR全長四量体とDHや9-deoxy-NDH、MSVIII-19といった異なる作用をもつ化合物の複合体の構造を、高分解能で解明する必要がある。今後の挑戦的な課題である。

謝 辞

この研究は当時東北大多元研の大学院生だった篠原正将氏、高山昂一郎氏、田中秀治氏らの行った実験結果を含んだ研究です。また、東北大学医学部の堂浦克美教授と当時助教だった(現・京都府立医科大・准教授)照屋健太博士のご協力のもと行われました。

また、科研費若手研究(B)20770076、特定領域研究10359549、その他東北大学多元研究奨励費などの支援により、この研究は遂行されました。ここに感謝いたします。

文 献

- 1) S. F. Trynelis, L. P. Wollmuth, C. J. McBain, F. S. Menniti, K. M. Vance, K. K. Ogden, K. B. Hansen, H. Yuan and S. J. Myers: *Pharmacol. Rev.* **62**, 405 (2010).
 - 2) F. Asztély and B. Gustafsson: *Mol. Neurobiol.* **12**, 1 (1996).
 - 3) D. D. Schoepp: *J. Pharmacol. Exp.* **299**, 12 (2001).
 - 4) S. Maren and M. Baudry: *Neurobiol. Learn Mem.* **63**, 1 (2005).
 - 5) P. A. Postila, G. T. Swanson and O. T. Pentikäinen: *Neuropharmacol.* **58**, 515 (2010).
- 日本結晶学会誌 第54巻 第6号 (2012)

- 6) C. Mulle, A. Sailer, I. Pérez-Otaño, H. Dickinson-Anson, P. E. Castillo, I. Bureau, C. Maron, F. H. Gage, J. R. Mann, B. Bettler and S. F. Heinemann: *Nature* **392**, 601 (1998).
- 7) G. T. Swanson and R. Sakai: *Prog. Mol. Subcell. Biol.* **46**, 123 (2009).
- 8) R. Calaf, A. Barlatier, C. Maillard, E. Ollivier-Vidal and D. Garcon: *Plantes Medicinales et Phytotherapie* **23**, 16 (1989).
- 9) T. Takemoto, K. Daigo, Y. Kondo and K. Kondo: *Yakugaku Zasshi* **86**, 1006 (1966).
- 10) H. Bräuner-Osborne, J. Egebjerg, E. Φ. Nielsen, U. Madsen, and P. K. Larsen: *J. Med. Chem.* **43**, 2609 (2000).
- 11) M. G. Moloney: *Nat. Prod. Rep.* **19**, 597 (2002).
- 12) R. Sakai, H. Kamiya, M. Murata and K. Shimamoto: *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 4112 (1997).
- 13) R. Sakai, T. Koike, M. Sasaki, K. Shimamoto, C. Oiwa, A. Yano, K. Suzuki, K. Tachibana and H. Kamiya: *Org. Lett.* **3**, 1479 (2001).
- 14) R. Sakai, G. T. Swanson, K. Shimamoto, T. Green, A. Contractor, A. Ghetti, Y. Tamura-Horikawa, C. Oiwa and H. Kamiya: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **296**, 655 (2001).
- 15) 例えば, M. Shoji, N. Akiyama, K. Tsubone, L. L. Lash, J. M. Sanders, G. T. Swanson, R. Sakai, K. Shimamoto, M. Oikawa and M. Sasaki: *J. Org. Chem.* **71**, 5208 (2006). など.
- 16) G. T. Swanson, T. Green, R. Sakai, A. Contractor, W. Che, H. Kamiya and S. F. Heinemann: *Neuron* **34**, 589 (2002).
- 17) J. M. Sanders, O. T. Pentikäinen, L. Settimo, U. Pentikäinen, M. Shoji, M. Sasaki, R. Sakai, M. S. Johnsona and G. T. Swanson: *Mol. Pharmacol.* **69**, 1849 (2006).
- 18) C. S. Qiu, L. Lash-Van Wyhe, M. Sasaki, R. Sakai, G. T. Swanson and R. W. Gereau IV: *Pain* **152**, 1052 (2011).
- 19) J. M. Sanders, K. Ito, L. Settimo, O. T. Pentikäinen, M. Shoji, M. Sasaki, R. Sakai, M. S. Johnsona and G. T. Swanson: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **314**, 1068 (2005).
- 20) K. Frydenvang, L. L. Lash, P. Naur, P. A. Postila, D. S. Pickering, C. M. Smith, M. Gajhede, M. Sasaki, O. T. Pentikäinen, G. T. Swanson and J. S. Kastrop: *J. Biol. Chem.* **284**, 14219 (2009).
- 21) L. L. Lash, J. M. Sanders, N. Akiyama, M. Shoji, P. Postila, O. T. Pentikäinen, M. Sasaki, R. Sakai and G. T. Swanson: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **324**, 484 (2008).
- 22) M. Unno, M. Shinohara, K. Takayama, H. Tanaka, K. Teruya, K. Doh-ura, R. Sakai, M. Sasaki and M. Ikeda-Saito: *J. Mol. Biol.* **413**, 667 (2011).
- 23) A. I. Sobolevsky, M. P. Rosconi and E. Gouaux: *Nature* **462**, 745 (2009).
- 24) 例えばM. L. Mayer: *Neuron* **45**, 539 (2005). など
- 25) P. Naur, B. Vestergaard, L. K. Skov, J. Egebjerg, M. Gajhede and J. S. Kastrop: *FEBS Lett.* **579**, 1154 (2005).
- 26) M. W. Fleck, E. Cornell and S. J. Mash: *J. Neurosci.* **23**, 1219 (2003).
- 27) G. T. Swanson, R. W. Gereau IV, T. Green and S. F. Heinemann: *Neuron* **19**, 913 (1997).
- 28) M. L. Mayer, R. Olson and E. Gouaux: *J. Mol. Biol.* **311**, 815 (2001).
- 29) H. Furukawa, S. K. Singh, R. Mancusso and E. Gouaux: *Nature* **438**, 185 (2005).
- 30) N. Armstrong and E. Gouaux: *Neuron* **28**, 165 (2000).
- 31) A. Birdsey-Benson, A. Gill, L. P. Henderson and D. R. Madden: *J. Neurosci.* **30**, 1463 (2010).

プロフィール

海野昌喜 Masaki UNNO
茨城大学フロンティア応用原子科学研究センター
研究部門・生体領域 准教授
Frontier Research Center for Applied Atomic Sciences,
Ibaraki University
〒319-1106 茨城県那珂郡東海村白方162-1
162-1 Shirakata, Tokai, Naka, Ibaraki 319-1106,
Japan
e-mail: unno19@mx.ibaraki.ac.jp
最終学歴：大阪大学理学研究科高分子科学専攻,
2002年3月修了, 博士(理学)
専門分野：構造生物化学
現在の研究テーマ：1. 毛髪キューティクルタン
パク質の亜鉛・カルシウム恒常性維持機構の解明
2. ビリン色素合成酵素の中性子結晶構造解析
3. タンパク質構造を基にした薬剤設計
趣味：スポーツ, 旅, 祭り

佐々木 誠 Makoto SASAKI
東北大学大学院生命科学研究科 分子生命科学専攻
教授
Graduate School of Life Sciences, Tohoku University
〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1
2-1-1 Katahira, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8577,
Japan
専門分野：天然物合成化学
現在の研究テーマ：複雑な構造を有し顕著な生理
活性を示す海洋天然物の全合成と機能解析

酒井隆一 Ryuichi SAKAI
北海道大学大学院水産科学研究院 生物資源化学
分野 教授
Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido
University
〒041-8611 北海道函館市港町3-1-1
3-1-1 Minato-cho, Hakodate, Hokkaido 041-8611,
Japan
専門分野：水圏生命科学
現在の研究テーマ：細胞表面の生命装置に作用す
る海洋天然物の探索

齋藤正男 Masao IKEDA-SAITO
東北大学多元物質科学研究所 有機・生命科学研
究部門 教授
Institute of Multidisciplinary Research for Advanced
Materials, Tohoku University
〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1
2-1-1 Katahira, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8577,
Japan
専門分野：構造生物無機化学
現在の研究テーマ：病原性細菌における鉄獲得機
構の解明