

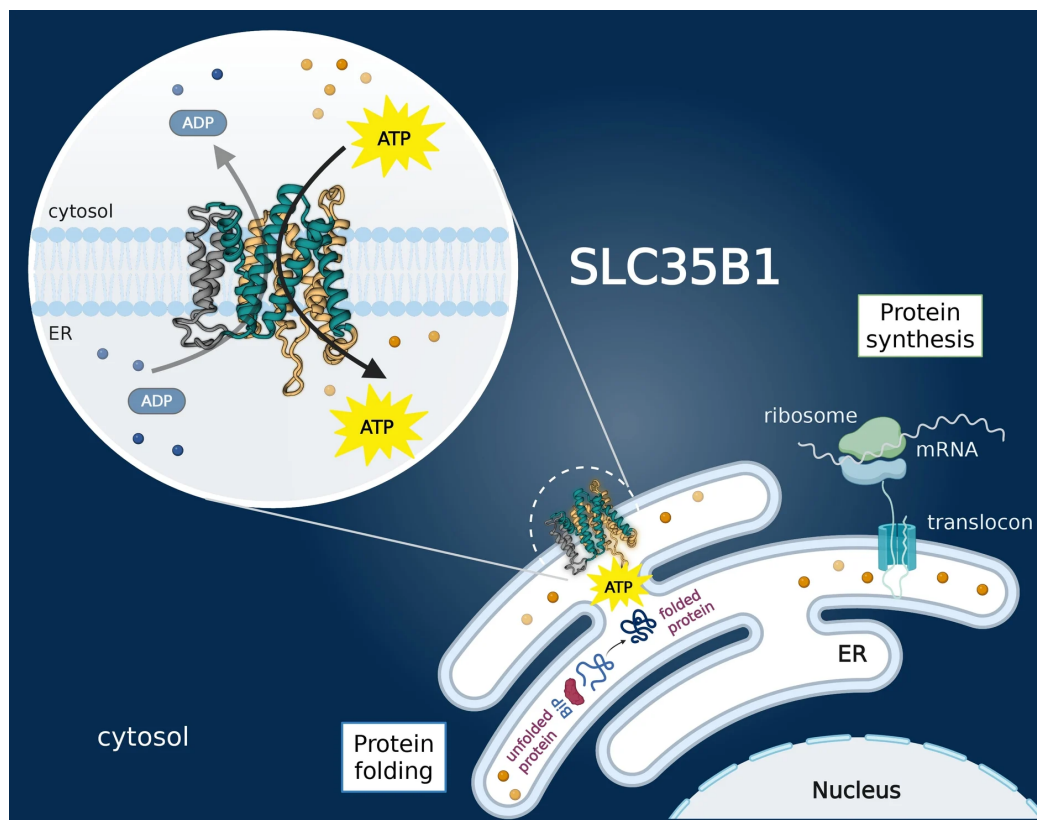
小胞体に ATP を輸送するトランスポーターの構造と分子機構の解明

概要

ヒト、植物、酵母など真核生物の細胞内には、さまざまな細胞内小器官があります。その一つである小胞体は、タンパク質のフォールディング（折り畳み）・翻訳後修飾・品質管理、脂質やステロイドの合成、カルシウム貯蔵、薬物の解毒など、様々な生化学反応を担い、細胞の活動を支える上で欠かせない存在です。小胞体が正常に機能するためには「細胞のエネルギー通貨」である ATP を大量に必要としますが、小胞体自体は ATP を作ることはできません。どのようにして小胞体に ATP が供給されるのかという問題は、生物学における大きな謎の一つでした。

野村紀通 生命科学研究科准教授、岩田想 同教授、David Drew スウェーデン・ストックホルム大学教授らは、ヒト膜タンパク質 SLC35B1 が ATP を細胞質から小胞体内部に輸送するトランスポーターであることを明らかにし、その立体構造と分子機構をクライオ電子顕微鏡を用いて解明しました。

本研究成果は、2025 年 5 月 21 日に、国際学術誌「*Nature*」に掲載されました。



小胞体に ATP を輸送する膜タンパク質 SLC35B1 の立体構造（ER: 小胞体、cytosol：細胞質）

1. 背景

小胞体は、タンパク質のフォールディング（折り畳み）・糖鎖修飾・品質管理、脂質やステロイドの合成、カルシウム貯蔵、薬物の解毒など、さまざまな重要な生化学反応を担い、細胞の活動を支える上で欠かせないオルガネラ（細胞小器官）です。小胞体が正常に機能するためには「細胞のエネルギー通貨」である ATP を大量に必要としますが、小胞体自体は ATP を作ることはできません。どのようにして小胞体に ATP が供給されるのかという問題は、これまで生物学における大きな謎の一つでした。

30 年以上前に、ATP が粗面小胞体ミクロソーム（注 1）の内部に輸送されることを試験管内反応で再現した報告はありますが（参考文献 1）、小胞体に ATP を輸送する分子が何であるかは特定されていませんでした。また近年、HeLa 細胞において短鎖干渉 RNA（siRNA）により膜タンパク質 SLC35B1 の発現を抑制すると小胞体の ATP レベルが低下するという実験結果から、SLC35B1 が小胞体への ATP 供給に関わっている可能性が示唆されました（参考文献 2）。しかし、SLC35B1 に ATP 輸送活性があることを示す直接的な生化学的証拠がなかったため、小胞体に ATP を輸送する分子の実体についての議論には決着がついていませんでした。

本研究では、SLC35B1 が ATP を輸送する活性があることを生化学的な手法で証明するとともに、SLC35B1 が細胞質から小胞体内部に ATP を輸送する様子を可視化して、その分子機構を解明することを目指しました。

2. 研究手法・成果

これまでの研究では、ヒト SLC35B1 はアミノ酸配列の類似性からヌクレオチド糖輸送体（NST）ファミリーに分類され、系統進化学的考察から「細胞質内の UDP-ガラクトースを小胞体に輸送し、その交換反応として小胞体内部の UMP を細胞質に輸送する可能性がある」と考えられてきました。そこで飽和移動差核磁気共鳴（STD-NMR）法（注 2）によって SLC35B1 精製試料と UDP-ガラクトースの相互作用の有無を検証したところ、これらの分子間には有意な相互作用は観測されませんでした。一方、同様の STD-NMR 分析において SLC35B1-ATP 間、および SLC35B1-ADP 間には顕著な相互作用が認められたため、SLC35B1 は ATP/ADP 交換輸送活性をもつ可能性が高いと考えられました（図 1）。

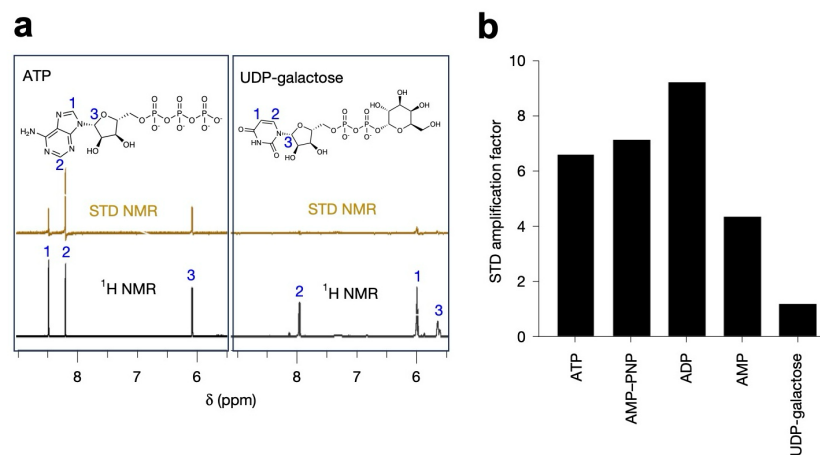


図 1 | STD-NMRによるSLC35B1と各種の化合物の相互作用解析 (a) SLC35B1プロテオリボソームとATPまたはUDP-ガラクトースの相互作用を解析した。飽和移動させていない場合のNMRスペクトル（黒）と飽和移動差 NMRスペクトル（薄茶）の比較。(b) ATP、AMP-PNP（ATPアナログ）、ADP、AMPまたはUDP-ガラクトースと SLC35B1との相互作用のSTDシグナル強度。

この仮説を検証するため、SLC35B1 精製タンパク質を脂質二重膜に埋め込んで人工的に作製した小胞（プロテオリポソーム）を用いて ATP/ADP 交換輸送の活性を検証しました（図2）。プロテオリポソーム内部に ADP が存在するときのみ ATP との交換輸送が起こることを観測し、その反応速度論的解析から求めた SLC35B1 と ATP の親和性は、以前に粗面小胞体ミクロソームの実験から算出された基質親和性の値とほぼ一致しました。また、CRISPR/Cas ノックアウト細胞株での表現型解析の結果からも SLC35B1 が小胞体膜における ATP/ADP 交換輸送体であることが証明されました。

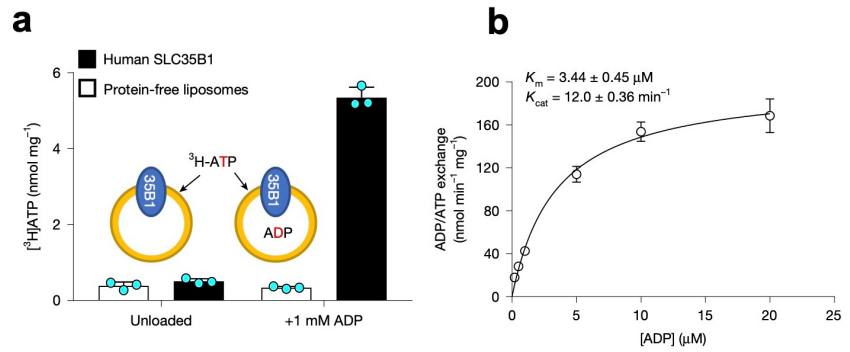


図2 | SLC35B1プロテオリポソームを用いたATP/ADP交換輸送活性の検証 (a) 1 mM ADP存在下または非存在下でのSLC35B1プロテオリポソーム（黒棒）による $[^3\text{H}]\text{ATP}$ の取り込みと、タンパク質を含まない空のリポソーム（白棒）との比較。(b) SLC35B1による $[^3\text{H}]\text{ADP/ATP}$ 交換輸送反応の動態。

さらに、小胞体膜 ATP/ADP 交換輸送の分子機構を明らかにするために、SLC35B1 の立体構造と基質との相互作用を構造生物学の手法を用いて解析しました。輸送基質が結合していない状態の SLC35B1（図3）、および ATP または ADP が結合した状態の SLC35B1 など、基質輸送過程で SLC35B1 が取りうるすべての主要なコンフォメーション6種類のクライオ電子顕微鏡構造を決定しました（図4）。それらの結果から、ATP/ADP が SLC35B1 の中央キャビティ（基質が通過する経路に形成される空洞）の内部で複数の部位と相互作用しながら段階的に移動して ATP が小胞体内部に到達する新しい分子機構を明らかにしました。

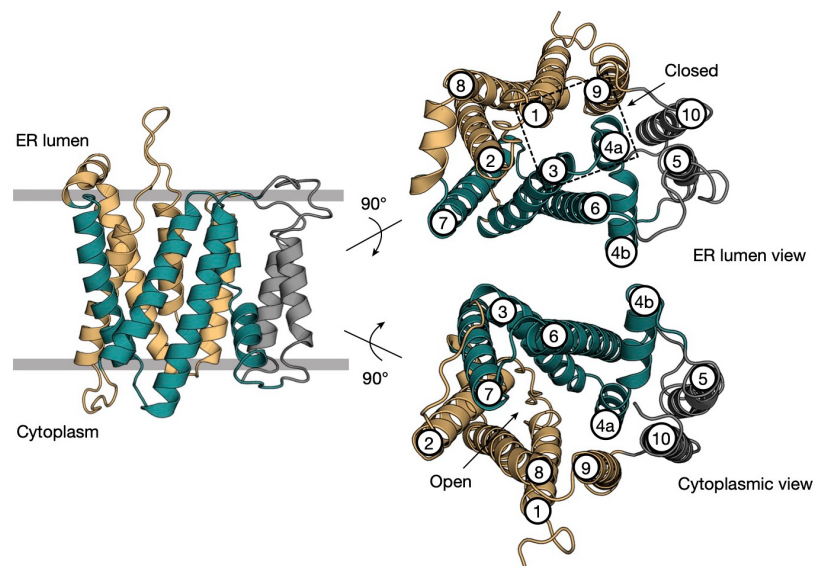


図3 | SLC35B1の立体構造 本図に示した構造は、中心部の基質通過経路に形成される空洞の小胞体内腔側が閉じており、細胞質側からのみ基質が進入することが可能な状態のスナップショットである。図4の左上（IFと表示された構造）に相当する。小胞体内腔側から観察すると（右上のパネル）、膜貫通ヘリックス1, 3, 4a, 9の位置（点線で囲った部分）が互いに接近して小胞体内腔からの物質のアクセスを遮断していることがわかる。

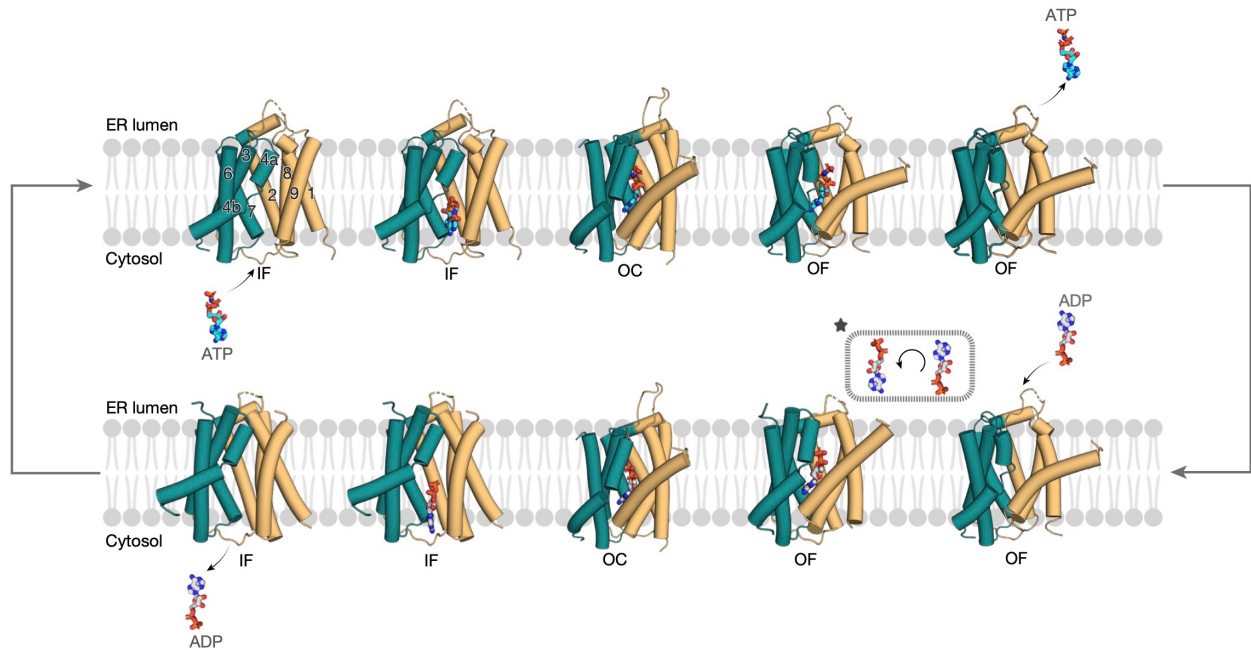


図4 | 6つの中間状態コンフォメーションの構造決定に基づくSLC35B1輸送サイクルのモデル 小胞体内腔に向けてphosphate-firstの向きで基質がステップワイズ移動する。IF：内向き状態（細胞質側に向けて開いた状態）、OF：外向き状態（小胞体内腔側に向けて開いた状態）、OC：閉じた状態（細胞質側、小胞体内腔側のどちらからも物質がアクセスできない状態）。赤：ヌクレオチドのリン酸部分、青：アデノシン

3. 今後の研究の展開

2型糖尿病、神経変性疾患、肥満、脂質異常症、がんなどの発症には小胞体ストレス（注3）が関与することが知られています。SLC35B1の活性を調節し、小胞体におけるATPレベルを人為的に制御することにより、小胞体機能障害に起因する様々な疾患に対する新たな治療法を生み出すことが可能になるかもしれません。本研究においてSLC35B1の立体構造と分子機構が高解像度で明らかになったことで、今後、SLC35B1は医薬品開発における有望な標的になることが期待されます。

<用語解説>

注1）ミクロソーム

細胞を破碎すると小胞体はちぎれて膜小胞となり、遠心分画によってミクロソーム（microsome）画分に回収される。密度勾配遠心分画により粗面小胞体由来の粗面ミクロソーム（rough microsome）と滑面小胞体の断片である滑面ミクロソーム（smooth microsome）に分けることができる。小胞体の代謝活性はミクロソーム画分を用いて測定される。

注2）飽和移動差核磁気共鳴（STD-NMR : Saturation Transfer Difference NMR）

タンパク質と相互作用を示す低分子化合物を識別するNMR分析法の一種で、低分子-タンパク質間相互作用の有無・強弱を分析することができる。STD-NMRでは電磁波パルスにより選択的にタンパク質の信号を励起・飽和させると、この飽和がタンパク質と相互作用のある低分子に移動する（飽和移動）。飽和移動した低分子はNMRスペクトルにおけるピーク強度が減少する。飽和移動させた場合とさせていない場合の差スペクトルをとることで、タンパク質と相互作用を示す化合物を識別することが可能となる。

注3) 小胞体ストレス

細胞が様々な環境変化にさらされることで、小胞体内腔においてタンパク質が正常に折り畳まれなくなり、不良タンパク質が蓄積していく状態をいう。小胞体ストレスが生じる要因としては、栄養飢餓、細胞内カルシウム濃度の攪乱、低酸素、変異タンパク質の発現、ウイルス感染などが挙げられる。小胞体ストレス状態になると、細胞は恒常性維持のために、タンパク質折り畳みの処理能力を上げるために脂質合成を活性化し、小胞体を拡張する。

<参考文献>

1. Clairmont, C. A., De Maio, A., Hirschberg, C. B. Translocation of ATP into the lumen of rough endoplasmic reticulum-derived vesicles and its binding to luminal proteins including BiP (GRP 78) and GRP 94. *J. Biol. Chem.* 267: 3983–3990, 1992
2. Klein, M. C. et al. AXER is an ATP/ADP exchanger in the membrane of the endoplasmic reticulum. *Nature Communications*, 9: 3489, 2018

<論文タイトルと著者>

タイトル：Stepwise ATP translocation into the endoplasmic reticulum by human SLC35B1
(ヒト SLC35B1 による小胞体への ATP の段階的輸送)

著者：Ashutosh Gulati, Do-Hwan Ahn, Albert Suades, Yurie Hult, Gernot Wolf, So Iwata, Giulio Superti-Furga, Norimichi Nomura, David Drew

掲載誌：Nature DOI：10.1038/s41586-025-09069-w