

**【目的】** *ATP13A2* (*PARK9*) はパーキンソン病などの神経変性疾患の原因遺伝子として特定された遺伝子である。最近の研究から *ATP13A2* はリソソームにおけるポリアミン輸送体としてはたらくことで、細胞質のポリアミン濃度維持に関わり、種々の細胞毒性から保護していることが明らかになった。*ATP13A2* は P 型輸送体に属しており、分子量が 100~200 程度のポリアミンを輸送する。他の P 型輸送体の多くはカチオン輸送体としてはたらくのに対して、基質のサイズや性質が著しく異なることから、その輸送機構に関して多くの疑問が残されていた。本研究では、*ATP13A2* の持つ独自の仕組みを明らかにすることを目的として、クライオ電子顕微鏡による構造解析、および構造をもとにした変異体解析を行った。

**【方法】** ヒト由来の *ATP13A2* を対象として、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析を行った。輸送サイクルにおける構造変化、および輸送基質の認識機構を明らかにするために、種々の阻害剤、および基質であるスペルミンを加えた状態で単粒子構造解析を行い、最終的に 4 つの反応中間体の構造を明らかにした。さらに、得られた構造から明らかになったポリアミン結合に関わるアミノ酸に対して、変異を導入して *ATP13A2* のスペルミン依存的な ATPase 活性に与える影響を評価することで、これらのアミノ酸のスペルミン輸送における役割を評価した。これらの結果から、*ATP13A2* の持つ独自の輸送機構に関して考察を行った。

**【結果】** ヒト *ATP13A2* の複数の反応中間体の構造から、輸送サイクルの大まかな構造変化が明らかになった。特に ATP の自己リン酸化に伴って、E1 から E2 へと遷移する過程の詳細な構造変化が明らかになった。リン酸化を受けた P ドメインに対して A ドメインが近づくように動き、その動きが M1-2 の二本の膜貫通ヘリックスを介して構造変化が伝わり、リソソーム内腔のゲートを開けるようにして、スペルミンの結合するトンネル状の溝を作り出すことが明らかになった。この溝の周囲には、負電価を持つアミノ酸、芳香族性アミノ酸が多く存在しており、これらの変異はいずれもスペルミンの輸送活性を著しく低下させることが明らかになった。したがって、基質であるスペルミンは特定のアミノ酸によって強く認識されるのではなく、複数の似たような性質を持つアミノ酸によって広範囲に渡って認識されることがわかった。このような認識機構は、*ATP13A2* が示す種々の線形ポリアミンに対する幅広い基質選択性によく合致した。さらに、*ATP13A2* に特異的にみられる N 末端側のドメイン (NTD) は脂質膜に部分的に突き刺さったような特徴的な構造を示しており、その密度は E2 状態でのみ観察されたことから、E2 状態の安定化に寄与しているのではないかと考えられた。実際に、これまでの研究によって、NTD には PIP<sub>2</sub> などの脂質結合領域が存在しており、これらの脂質の結合によって、輸送サイクルを促進することが報告されている。したがって、本研究によって得られた結果から、NTD は脂質膜へアンカーされることで E2 状態を安定化して、*ATP13A2* の輸送サイクルを促進するという独自の性質をもつことが明らかになった。

クライオ電子顕微鏡によって明らかになった hATP13A2 の輸送サイクル

