

様 式 Z - 7

平成 2 7 年度科学研究費助成事業 実績報告書 (研究実績報告書)

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究(B) (一般) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 8 年度

5. 課題番号

2	6	2	9	1	0	2	3
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 すべての生物に共通する膜タンパク質形成過程の構造生命科学

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 4 3 6 7 1 6	ツカザキ トモヤ 塚崎 智也	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

生体膜には様々なタンパク質が埋め込まれて機能しているが、これらの形成過程（タンパク質の膜へ組み込み）は生命にとって必須の経路である。リボソームによって合成される新生膜タンパク質の多くはSecトランスロコンを経由する。Secトランスロコンは、3つの異なる膜タンパク質からなる複合体で、細菌ではSecYEG複合体、真核生物ではSec61複合体とよばれる。これまでに複数のSecトランスロコンの構造が報告され、タンパク質膜組み込みについていくつかのモデルが提唱されてきた。しかしながら、さらなる詳細な理解のためには高い分解能での構造解析が待たれていた。本研究では、脂質キュービック相（LCP）法で得られた結晶から、これまでで最も高分解能（2.7オングストローム分解能）でのSecYEG複合体の構造をX線結晶構造解析により決定した。本構造解析によって、SecGのループがSecYEGにより形成されているタンパク質が通過する経路を塞ぐように位置しているという新しい知見が得られた。続く機能解析や過去の構造との比較、MDシミュレーションの結果から、閉状態のSecYEGでは、分子やタンパク質の拡散を防ぐためにSecGのループが通過経路の「キャップ」として働き、タンパク質が輸送される状態ではその「キャップ」を退けることで、タンパク質の輸送を調節していると考えられた。プラグとよばれる部位が細胞外側から蓋をしているという過去の知見と組み合わせると、SecYEGのタンパク質が通過する経路は、細胞膜の両側から閉ざされ、タンパク質の輸送に応じて開くという新たなモデルを提唱した。さらに、ペプチドが結合した別状態のSecYEGの結晶構造も報告しており、基質タンパク質との相互作用や、膜透過初期の構造変化も議論した。今回の報告は、SecY、SecE、SecGすべての構成要素を含む完全なSecトランスロコンの高分解能の報告であり、生命活動に必須であるタンパク質輸送の基礎研究の発展に大きく貢献するものである。

10. キーワード

- | | | | |
|------------|--------------|------------|-------------|
| (1) 蛋白質 | (2) Sec | (3) 膜タンパク質 | (4) タンパク質輸送 |
| (5) SecYEG | (6) X線結晶構造解析 | (7) 膜組み込み | (8) 構造生命科学 |

(注) ・印刷に当たっては、A 4 判 (縦長) ・両面印刷すること。

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

研究計画にそって順調に研究を進めている。本年度は、タンパク質の膜組込みに関わる構造生物学的な解析の論文を報告した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

膜タンパク質の膜組込みに関わる膜タンパク質YidCならびにSecYEGの構造を昨年度までに、構造を決定した。これらの構造情報を用いて機能解析をすすめるとともに、YidC、SecYEGを含む複合体の構造解析を進める。タンパク質の膜組込み反応を完全に理解するためには、これら巨大な複合体の解析が欠かせない。大腸菌 SecYEG,YidC は同時に過剰発現させることができ(Bieniossek et al., Nat. Methods 2009), 大腸菌 SecYEG,YidCを含む複合体は、適切な界面活性剤を選択すれば単離できる(Duong & Wickner, 1997, EMB0J.)。同様の手法によりT. t. 由来YidCと、Secタンパク質を同時に大腸菌に過剰発現させ、精製する系を組む。様々な界面活性剤を検討し、安定に複合体を精製できる条件を探索する。安定に複合体を単離できれば、結晶化へと進める。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

(課題番号： 26291023)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(2 / 7)

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件/うち査読付論文 計(2)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(2)件

著者名		論文標題				
Naomi Shimokawa-Chiba, Kaoru Kumazaki, Tomoya Tsukazaki, Osamu Nureki, Koreaki Ito, Shinobu Chiba		Hydrophilic microenvironment required for the channel-independent insertase function of YidC protein.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	有	112	2015	516-520	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1073/pnas.1423817112						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著者名		論文標題				
Yoshiki Tanaka, Yasunori Sugano, Mizuki Takemoto, Takaharu Mori, Arata Furukawa, Tsukasa Kusakizako, Kaoru Kumazaki, Ayako Kashima, Ryuichiro Ishitani, Yuji Sugita, Osamu Nureki, Tomoya Tsukazaki		Crystal Structures of SecYEG in Lipidic Cubic Phase Elucidate a Precise Resting and a Peptide-Bound State				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Cell Reports	有	13	2015	1531-1568	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.celrep.2015.10.025						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

(学会発表) 計(11)件/うち招待講演 計(6)件/うち国際学会 計(7)件

発表者名		発表標題	
塚崎智也		プロトン駆動型タンパク質分泌モーター SecDF	
学会等名	発表年月日	発表場所	
分子研研究会「膜タンパク質内部のプロトンの透過を考える」(招待講演)	2015年04月20日～ 2015年04月21日	岡崎コンファレンスセンター(愛知県・岡崎市)	

発表者名	発表標題	
菅野泰功, 春山隆充, 田中良樹, 紺野宏記, 塚崎智也	タンパク質分泌マシーナリーの動的精密探査に向けて	
学会等名	発表年月日	発表場所
第12回21世紀大腸菌研究会	2015年06月04日 ~ 2015年06月05日	琵琶湖グランドホテル(滋賀県・大津市)

発表者名	発表標題	
古川新, 田中良樹, 塚崎智也	部位特異的光架橋による YidC-Sec 複合体の 4 次構造決定にむけて	
学会等名	発表年月日	発表場所
第12回21世紀大腸菌研究会	2015年06月04日 ~ 2015年06月05日	琵琶湖グランドホテル(滋賀県・大津市)

発表者名	発表標題	
Tomoya Tsukazaki	Structures of Membrane Protein Insertase YidC	
学会等名	発表年月日	発表場所
Gordon Research Conference 2015, Membrane Protein Folding (招待講演) (国際学会)	2015年06月21日 ~ 2015年06月26日	ペンタリー大学(アメリカ合衆国・マサチューセッツ州)

発表者名	発表標題	
塚崎智也	膜蛋白質結晶化技術の向上により解明されたSec/YidCによる蛋白質輸送機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
第3回 生体分子サイエンスセミナー(招待講演)	2015年08月31日	東京工業大学すずかけキャンパス(神奈川県・横浜市)

発表者名	発表標題	
Tomoya Tsukazaki	Cytoplasmic conformational transition of Sec translocon	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会(招待講演)(国際学会)	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学(石川県・金沢市)

発表者名	発表標題	
Yasunori Sugano, Yoshiki Tanaka, Mizuki Takemoto, Takaharu Mori, Takamitsu Haruyama, Arata Furukawa, Tsukasa Kusakizako, Kaoru Kumazaki, Ayako Kashima, Ryuichiro Ishitani, Hiroki Konno, Yuji Sugita, Osamu Nureki, Tomoya Tsukazaki	Structure and dynamics of Sec protein-conducting channel	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会(国際学会)	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学(石川県・金沢市)

発表者名	発表標題	
Tomoya Tsukazaki, Kaoru Kumazaki, Shinobu Chiba, Mizuki Takemoto, Arata Furukawa, Toshiki Kishimoto, Yasunori Sugano, Takaharu Mori, Yoshiki Tanaka, Yuji Sugita, Koreaki Ito, Ryuichiro Ishitani, Osamu Nureki	Structures of Membrane Protein Insertase YidC	
学会等名	発表年月日	発表場所
Structural Biological Dynamics: From Molecules to Life with 60 trillion Cells(国際学会)	2015年11月05日 ~ 2015年11月06日	東京大学(東京都・文京区)

発表者名	発表標題	
Tomoya Tsukazaki	Structure of YidC reveals a mechanism of Sec-independent membrane protein insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 25th Hot Spring Harbor International Symposium Cutting Edge of Technical Innovations in Structural and Systems Biology(招待講演)(国際学会)	2015年11月13日 ~ 2015年11月14日	九州大学(福岡県・福岡市)

発表者名	発表標題	
Yoshiki Tanaka, Yasunori Sugano, Mizuki Takemoto, Takaharu Mori, Arata Furukawa, Tsukasa Kusakizako, Kaoru Kumazaki, Ayako Kashima, Ryuichiro Ishitani, Yuji Sugita, Osamu Nureki, Tomoya Tsukazaki	Complete and peptide-bound structures of the Sec translocon	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「動的秩序と機能」第4回公開国際シンポジウム(国際学会)	2015年11月22日 ~ 2015年11月23日	九州大学(福岡県・福岡市)

発表者名	発表標題	
Tomoya Tsukazaki	Structure of YidC reveals a mechanism of Sec-independent membrane protein insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 2nd CU-NAIST SYMPOSIUM 2015(招待講演)(国際学会)	2015年12月16日	チュロンコン大(タイ・バンコク)

(図書) 計(2)件

著者名	出版社		
SPring-8/JASRI	ROKKO Publishing & Sale Co.		
書名	発行年	総ページ数	
SPring-8 Research Frontiers 2014	2 0 1 5	148(26-27)	

著者名	出版社		
日本生化学会	国際文献社		
書名	発行年	総ページ数	
生化学 88	2 0 1 6	153(114-118)	

(課題番号: 26291023)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(6/7)

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

<p>細胞膜を越えるたんぱく質輸送の新たな機構を解明 http://www.naist.jp/pressrelease/detail_j/topics/2162/</p>
