

平成 27 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成 27 年度～平成 29 年度
5. 課題番号

1	5	J	0	8	2	3	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 過渡的な超分子複合体によるタンパク質膜透過・膜組み込み過程の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	フルカワ アラタ 古川 新	バイオサイエンス研究科	特別研究員(DC1)

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

今年度の実験計画に基づき、バクテリアタンパク質膜透過装置SecYEGの結晶構造を明らかにするための実験を進行させた。これまでに、SecYEの構造はいくつか報告されていたが、SecGを含む複合体の4オングストローム分解能を超える構造は明らかとなっていない。そこで、SecYEGの高分解能構造決定を目指し、研究を行った。高度好熱菌由来のSecYEGを大腸菌内で発現させた後、各種カラムクロマトグラフィーを用いた精製を行い、結晶化に十分な純度でのタンパク質を取得した。LCP法による結晶化を行い、スクリーニングの結果、測定に必要な大きさの単結晶を取得した。大型放射光施設SPring-8における測定により、最高で2.7オングストローム分解能のデータセットの取得に成功した。以前に報告されているSec複合体を用いた分子置換法により、位相決定を行った。構造決定により、これまでの報告では見えていなかったSecGのフレキシブルなループがSecYのサイトプラズム側の孔を塞ぐように位置していることが明らかとなった。システインクロスリンク実験により、SecYとSecGのループが相互作用することを確認した。このループをSecYに固定すると、基質タンパク質の膜透過反応が妨げられた。構造情報とこれらの結果より、これまで役割が不明であったSecGのループは、静止状態のSecYの孔を塞ぐ役割があることが考えられた。これらの結果をまとめ、新たなモデルを提唱した(Tanaka et al., Cell Rep. 2015)。

その後、膜透過反応をより詳細に理解するため、SecYEGと協力して膜透過反応を行うとされるいくつかの因子の構造決定を目指し、研究を進めた。現在、複数の複合体の結晶取得に成功し、構造決定を試みている。

10. キーワード

- | | | | |
|--------------|--------------|----------------|------------|
| (1) タンパク質膜透過 | (2) X線結晶構造解析 | (3) Secトランスロコン | (4) SecYEG |
| (5) | (6) | (7) | (8) |

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)

Secトランスロコンの高分解能構造解析に成功し、その構造情報を基にした機能解析をとあわせて新たなモデルを提唱した。今後はより高次のSec複合体の構造解析達成を目指す。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

引き続きより高次のSec複合体の構造決定をすすめる。構造が決定できれば、構造情報に基づいた遺伝学的、生化学的なアッセイにより膜透過現象の詳細な解明を目指す。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件/うち査読付論文 計(1)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
Tanaka Y, Sugano Y, Takemoto M, Mori T, Furukawa A, Kusakizako T, Kumazaki K, Kashima A, Ishitani R, Sugita Y, Nureki O, Tsukazaki T.		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	1561-1568	-	
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						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

(学会発表) 計(3)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(2)件

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	
Sugano Y, Tanaka Y, Takemoto M, Mori T, Haruyama T, Furukawa A, Kusakizako T, Kumazaki K, Kashima A, Ishitani R, Konno H, Sugita Y, Nureki O, Tsukazaki T		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	
Tsukazaki T, Kumazaki K, Chiba S, Takemoto M, Furukawa A, Kishimoto T, Sugano Y, Mori T, Tanaka, Y, Sugita Y, Ito K, Ishitani R, Nureki O	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)

(図書) 計(0)件

著者名	出版社	
書名	発行年	総ページ数

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

(課題番号: 15J08235)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

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

--