

様式 Z - 7

平成28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26年度～平成28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

タンパク質の膜組込みは、すべての生物に保存される必須のメカニズムである。モデル生物の大腸菌においては、Secタンパク質と、YidCがタンパク質の膜組込みに関与する。主要なSecタンパク質のいくつかとYidCは、真核細胞も同様のタンパク質が存在する。タンパク質の膜組込み時に形成されるSecとYidCから構成される複合体はSecホロ複合体と呼ばれているがその実態は不明である。タンパク質の膜組込みを明らかにするためには、これらタンパク質の構造解析と、構造情報に基づく機能解析が必要である。本年度は、タンパク質の膜組込みに関連するSecタンパク質のこれまでに報告されていない形の構造をX線結晶構造解析で明らかとした。YidCとSecタンパク質との相互作用領域は未だ不明な点が多いが、この構造解析は今後の相互作用解析の基盤となる。Secホロ複合体は、6種類の膜タンパク質から形成される。そのうち、5種類から構成されるタンパク質複合体を新たに見出した安定変異体を用いることで、精製することに成功した。続いて結晶構造解析を進めている。構造解析だけでなく、タンパク質の膜組込みを明らかとするためには、純化されたin vitroでの実験系の確立も欠かせない。本研究期間において、新規に開発されたポリマーを用いて、効率よくナノディスクとよばれる状態に再構成する系を組んだ。膜タンパク質の基質として蛍光基をもつ特殊なタンパク質を合成し、このYidC含有ナノディスクを用いて、in vitroで膜組込みさせるべく研究を進めた。

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) 膜組込み

(8) 構造生命科学

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1/9)

11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

(使用計画)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表 (平成 28 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 (1) 件

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】				
Arata Furukawa, Kunihito Yoshikaie, Takaharu Mori, Hiroyuki Mori, Yusuke V. Morimoto, Yasunori Sugano, Shigehiro Iwaki, Tohru Minamino, Yuji Sugita, Yoshiki Tanaka, Tomoya Tsukazaki		Tunnel formation inferred from the I form structures of the proton-driven protein secretion motor SecDF				
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	印刷中	2017	印刷中	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
なし						
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 (19) 件 / うち招待講演 計 (5) 件 / うち国際学会 計 (8) 件

発 表 者 名		発 表 標 題	
吉海江 国仁, 菅野 泰功, 田中 良樹, 塚崎 智也		SecDFの構造変化	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第13回 21世紀大腸菌研究会	2016年06月02日 ~ 2016年06月03日	グリーンピア南阿蘇 (熊本県・南阿蘇村)	

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		蛋白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13回 21世紀大腸菌研究会	2016年06月02日 ~ 2016年06月03日	グリーンピア南阿蘇 (熊本県・南阿蘇村)	

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	Secトランスロコンの1ユニット再構成系の構築と動的探査	
学会等名	発表年月日	発表場所
第16回日本蛋白質科学会 年会	2016年06月06日 ~ 2016年06月09日	福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

発表者名	発表標題	
森 貴治, 塚崎 智也, 杉田 有治	タンパク質膜透過チャネルSecYEGにおけるSecEの役割-分子動力学計算によるアプローチ-	
学会等名	発表年月日	発表場所
第16回日本蛋白質科学会 年会	2016年06月06日 ~ 2016年06月09日	福岡国際会議場 (福岡県・福岡市)

発表者名	発表標題	
田中 良樹, 菅野 泰功, 武本 瑞貴, 森 貴治, 古川 新, 吉海江 国仁, 草木迫 司, 熊崎 薫, 鹿島 絢子, 石谷 隆一郎, 杉田 有治, 濡木 理, 塚崎 智也	新生鎖を膜透過させるSec蛋白質のX線結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第16回日本蛋白質科学会 年会 (招待講演)	2016年06月06日 ~ 2016年06月09日	福岡国際会議場 (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, 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
Nascent Chain Biology Meeting 2016 (国際学会)	2016年09月01日 ~ 2016年09月03日	富士レークホテル (山梨県・富士河口湖町)

発表者名	発表標 題	
森 貴治, 塚崎 智也, 杉田 有治	分子シミュレーションによるタンパク質透過チャネル因子 SecE の構造揺らぎの解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本物理学会 2016年秋季大会	2016年09月13日 ~ 2016年09月16日	金沢大学角間キャンパス (石川県・金沢市)

発表者名	発表標 題	
Tomoya Tsukazaki, Kunihiro Yoshikawa, Arata Furukawa, Yasunori Sugano, Yoshiki Tanaka	Snapshots of a proton-driven protein translocation motor	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 42nd Naito Conference on In the Vanguard of Structural Biology: Revolutionizing Life Sciences (招待講演) (国際学会)	2016年10月04日 ~ 2016年10月07日	シャトレゼ ガトーキングダム サッポロ (北海道・札幌市)

発表者名	発表標 題	
Arata Furukawa, Yasunori Sugano, Yoshiki Tanaka, Tomoya Tsukazaki	Cytoplasmic insights of protein-conducting channel implied from the crystal structures of SecYEG	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Zing conferences: Protein Secretion in Bacteria Conference 2016 (国際学会)	2016年11月09日 ~ 2016年11月12日	Sirata Beach Resort Tampa, Florida. USA

発表者名	発表標 題	
Arata Furukawa, Kunihiro Yoshikawa, Yasunori Sugano, Yoshiki Tanaka, Tomoya Tsukazaki	Snapshots of the proton-driven protein translocation motor	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Zing conferences: Protein Secretion in Bacteria Conference 2016 (国際学会)	2016年11月09日 ~ 2016年11月12日	Sirata Beach Resort Tampa, Florida. USA

発表者名	発表標 題	
古川 新, 吉海江 国仁, 森 貴治, 森 博幸, 森本 雄祐, 菅野 泰功, 岩木 薫大, 南野 徹, 杉田 有治, 田中 良樹, 塚崎 智也	Snapshots of a protein translocation motor	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第 5 4 回日本生物物理学会年会 (招待講演) (国際学会)	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県・つくば市)

発表者名	発表標 題	
Takaharu Mori, Yoshiki Tanaka, Kunihiro Yoshikae, Tomoya Tsukazaki, Yuji Sugita	Molecular mechanisms underlying proton transport in SecDF	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第 5 4 回日本生物物理学会年会 (国際学会)	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県・つくば市)

発表者名	発表標 題	
古川 新, 吉海江 国仁, 森 貴治, 森 博幸, 森本 雄祐, 菅野 泰功, 岩木 薫大, 南野 徹, 杉田 有治, 田中 良樹, 塚崎 智也	タンパク質膜透過を駆動するモータータンパク質のスナップショット	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
2017年 生体運動研究合同班会議	2017年01月06日 ~ 2017年01月08日	神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

発表者名	発表標 題	
春山 隆充, 菅野 泰功, 田中 良樹, 紺野 宏記, 塚崎 智也	Secトランスロコンを介した膜透過の高速AFM観察	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
平成28年度 生物物理学会中部支部 講演会	2017年03月06日	名古屋大学 (愛知県・名古屋市)

発表者名	発表標 題	
大門 康志, 舛井 千草, 宮崎 亮次, 櫻田 洋人, 田中 良樹, 鈴木 健裕, 堂前 直, 森 博幸, 塚崎 智也, 成田 新一郎, 秋山 芳展	大腸菌のペリプラズムプロテアーゼBepAは、TPR domainを介した タンパク質間相互作用により外膜機能を維持する	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本農芸化学会2017年度大会	2017年03月17日 ~ 2017年03月20日	ウエスティン都ホテル (京都府・京都市)

発表者名	発表標 題	
谷口 勝英, 藤本 圭, 田中 良樹, 塚崎 智也	共生細菌由来MATE様多剤排出トランスポーターの結晶化	
学会等名	発表年月日	発表場所
第90回 日本細菌学会総会	2017年03月19日 ~ 2017年03月21日	仙台国際センター (宮城県・仙台市)

発表者名	発表標 題	
田中 良樹, 古川 新, 森 貴治, 森 博幸, 森本 雄祐, 菅野 泰功, 岩木 薫大, 南野 徹, 杉田 有治, 塚崎 智也	膜輸送装置の構造と機能	
学会等名	発表年月日	発表場所
第90回 日本細菌学会総会 (招待講演)	2017年03月19日 ~ 2017年03月21日	仙台国際センター (宮城県・仙台市)

発表者名	発表標 題	
Arata Furukawa, Kunihito Yoshikaie, Takaharu Mori, Hiroyuki Mori, Yusuke V. Morimoto, Yasunori Sugano, Shigehiro Iwaki, Tohru Minamino, Yuji Sugita, Yoshiki Tanaka, Tomoya Tsukazaki	Snapshots of the proton-driven protein translocation motor	
学会等名	発表年月日	発表場所
EMBO conference Protein translocation and cellular homeostasis (招待講演) (国際学会)	2017年03月18日 ~ 2017年03月22日	Hotel Valamar Lacroma (クロアチア・ドブロブニク)

発表者名	発表標題	
Yasunori Sugano, Arata Furukawa, Yoshiaki Tanaka, Tomoya Tsukazaki	Cytoplasmic insights of protein-conducting channel implied from the crystal structures of SecYEG	
学会等名	発表年月日	発表場所
EMBO conference Protein translocation and cellular homeostasis (国際学会)	2017年03月18日 ~ 2017年03月22日	Hotel Valamar Lacroma (クロアチア・ドブロブニク)

〔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

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

奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 塚崎研 研究業績
<http://bsw3.naist.jp/tsukazaki/publication.html>