

様式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	バイオサイエンス研究科		
	職	准教授		
	氏名	塚崎 智也		

1. 研究種目名 挑戦的萌芽研究 2. 課題番号 16K14713

3. 研究課題名 1分子解析によるプロトン駆動型輸送モーターの動態探査

4. 補助事業期間 平成28年度～平成29年度

5. 研究実績の概要

細胞質で合成されたタンパク質が細胞膜を越えて輸送される過程は、すべての生物に保存されている。真正細菌ではモータータンパク質SecA ATPaseがタンパク質膜透過チャネルSecYEG複合体と相互作用し、SecAがATPの加水分解に伴うダイナミックな構造変化を繰り返すことで、タンパク質の膜透過を駆動する。これまでX線結晶構造解析などによりSecタンパク質の構造解析が達成され、構造情報に基づいた機能解析も進められてきた。しかしながら、Secタンパク質によるタンパク質膜透過の動的な解析の報告はなく、タンパク質膜透過反応については不明な点が多く残っている。動的解析を進めるにあたり、タンパク質膜透過反応の複雑な系を単純化するため、SecYとSecAをリンカーで繋いだ融合タンパク質を用いて、SecY-A/E/G複合体(SecYAEG)を調製し、その機能の解析を進めた。SecYAEGはタンパク質膜透過活性を持ち、Nanodiscと呼ばれる1ユニット再構成系を用いて、基質タンパク質であるproOmpAと相互作用することを明らかにした。動的構造解析は優れた時空間分解能を持つ高速原子間力顕微鏡(高速AFM)を用いて測定を行った。まずNanodiscに再構成されたSecYEGとSecYAEGをSecAが検出できる細胞質側が上向きで固定化することに成功し、SecAがSecY上に位置し構造変化することを確認した。本研究によりSecタンパク質によるタンパク質膜透過の動的解析が進展し、高速AFMによるNanodiscを用いた膜タンパク質の動的解析の手法が確立できた。

6. キーワード

タンパク質

7. 研究発表

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Furukawa Arata, Nakayama Shintaro, Yoshikaie Kunihiro, Tanaka Yoshiki, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 26
2. 論文標題 Remote Coupled Drastic -Barrel to -Sheet Transition of the Protein Translocation Motor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 485～489
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.str.2018.01.002	査読の有無 有
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）	国際共著 -

2 版

1. 著者名 Daimon Yasushi, Iwama-Masui Chigusa, Tanaka Yoshiki, Shiota Takuya, Suzuki Takehiro, Miyazaki Ryoji, Sakurada Hiroto, Lithgow Trevor, Dohmae Naoshi, Mori Hiroyuki, Tsukazaki Tomoya, Narita Shin-ichiro, Akiyama Yoshinori	4. 巻 106
2. 論文標題 The TPR domain of BepA is required for productive interaction with substrate proteins and the -barrel assembly machinery complex	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol. Microbiol.	6. 最初と最後の頁 760 ~ 776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/mmi.13844	査読の有無 有
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)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tanaka Yoshiki, Iwaki Shigehiro, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 25
2. 論文標題 Crystal Structure of a Plant Multidrug and Toxic Compound Extrusion Family Protein	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 1455 ~ 1460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.str.2017.07.009	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Sugano Yasunori, Furukawa Arata, Nureki Osamu, Tanaka Yoshiki, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 12
2. 論文標題 SecY-SecA fusion protein retains the ability to mediate protein transport	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0183434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183434	査読の有無 有
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)	国際共著 -
1. 著者名 Furukawa Arata, Yoshikaie Kunihiro, Mori Takaharu, Mori Hiroyuki, Morimoto Yusuke V., Sugano Yasunori, Iwaki Shigehiro, Minamino Tohru, Sugita Yuji, Tanaka Yoshiki, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 19
2. 論文標題 Tunnel Formation Inferred from the I-Form Structures of the Proton-Driven Protein Secretion Motor SecDF	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 895 ~ 901
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.030	査読の有無 有
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)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tomoya Tsukazaki
2. 発表標題 Structure-based working model of SecDF, a bacterial protein translocation motor
3. 学会等名 Gordon Research Conference: Protein Transport Across Cell Membranes (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoya Tsukazaki
2. 発表標題 Protein Translocation Motor SecDF
3. 学会等名 New trends for Structural Life Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 Snapshots of the proton-driven protein secretion motor
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 タンパク質膜透過駆動モータータンパク質 SecDF
3. 学会等名 第14回21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2017年

2 版

1. 発表者名 Tomoya Tsukazaki
2. 発表標題 Protein translocation motor SecDF
3. 学会等名 International Symposium on Protein Quality Control (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本生物物理学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 中西印刷株式会社	5. 総ページ数 120(78-82)
3. 書名 生物物理Vol.58	

8. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

9. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

10. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

11. 備考

細胞膜を越えてタンパク質を輸送するモータータンパク質の詳細な作動原理を解明
<http://www.naist.jp/pressrelease/2017/05/003760.html>