

様式 C-7-1

平成30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）

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	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	塚崎 智也		

1. 研究種目名 基盤研究(B)(一般) 2. 課題番号 18H024053. 研究課題名 タンパク質膜透過チャネル複合体の構造基盤とそのしくみ4. 研究期間 平成30年度～令和2年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

生体内におけるタンパク質輸送において、多くのタンパク質は膜をこえる。タンパク質という膜を巨大なタンパク質が透過するためには専用のチャネルが必要となる。大腸菌Secトランスロコンはタンパク質を透過させるチャネルを形成する。Secトランスロコンは膜タンパク質SecY, SecE, SecGからなる複合体(SecYEG)である。SecYEGは、SecA ATPase, SecDF, YidC, リボソームなどと複合体を形成し機能する。この複合体が織りなす仕組みについては未だ不明な点が多く残されている。この複合体の分子メカニズム解明のため各因子の構造解析を進めてきた。SecDFとYidCについては、これまでの構造解析とは異なる状態の構造が得られ、これら構造情報に基づく機能解析を行い、本年度原著論文として発表した。SecDFは可動性のペリプラズム領域を持つが、この領域は生体内でベーターシート構造からベータバレル構造へとフォールディングチェンジするという劇的な変化を見出した。実際に生体内においても、これらの構造体が存在することを確認した。これまで提唱されていた以上にSecDFは、大きな構造変化を繰り返すことでタンパク質膜透過反応に関与していることが明らかとなった。大腸菌YidCの解析では、これまでよりも高い分解能での構造解析を達成し、YidCのコア領域すべてをモデル化することに成功した。この構造情報を用いて進めた分子動力学計算の結果は、YidCのサイプラズム領域の可動性について示唆を与えた。また、本研究の目標の一つであるホトランスロコンの構造解析にむけても、準備を進めSecトランスロコンと相互作用するタンパク質の共結晶化に成功した。今後はさらに分解能を向上させSecトランスロコンの全容解明を目指す。

7. キーワード

トランスロコン

8. 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
おおむね順調に研究が進行した結果、責任著者として英語の論文を6報報告した。

3版

9. 今後の研究の推進方策

タンパク質の膜透過の分子メカニズムの解明には、タンパク質膜透過時に形成されるSecトランスロコンを含む複合体の構造情報が必要とされる。酵母由来のSecトランスロコンを含む複合体は本年度末に2報が立て続けに報告された。これらはクライオ電子顕微鏡単粒子解析によるもので分解能が4オングストローム程度であった。バクテリアでは「SecA, SecYEG, SecDF, YidC から構成されるSecトランスロコンを含む複合体が存在」する。代表者らを含むいくつかのグループによって、これら各構成因子の立体構造情報が報告され、タンパク質輸送の分子メカニズムの詳細が明らかとなりつつある。しかしながら、「未だSecトランスロコンを含む超分子複合体の全体像(全像)は解明されていない」。本研究ではこの膜タンパク質超分子複合体の構造決定を行い、新たに得られた構造情報に基づく機能解析から、タンパク質の膜透過・膜組込みの分子メカニズムの詳細を解き明かす。今年度は、この構造解析を達成すべく安定な複合体の精製ができるよう融合タンパク質を使ったり、異なる界面活性剤を用いて精製をおこなったりする。Secトランスロコンを含む巨大複合体の単離ができれば、クライオ電子顕微鏡による解析を進めるとともに、X線結晶構造解析を目指して結晶化を進める。

10. 研究発表(平成30年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計7件(うち査読付論文 7件/うち国際共著論文 0件/うちオープンアクセス 7件)

1. 著者名 Tsukazaki Tomoya	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural Basis of the Sec Translocon and YidC Revealed Through X-ray Crystallography	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Protein Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10930-019-09830-x	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 Shahrizal Mohammad, Daimon Yasushi, Tanaka Yoshiki, Hayashi Yugo, Nakayama Shintaro, Iwaki Shigehiro, Narita Shin-ichiro, Kamikubo Hironari, Akiyama Yoshinori, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 431
2. 論文標題 Structural Basis for the Function of the -Barrel Assembly-Enhancing Protease BepA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 625 ~ 635
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2018.11.024	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 Haruyama Takamitsu, Sugano Yasunori, Kodera Noriyuki, Uchihashi Takayuki, Ando Toshio, Tanaka Yoshiki, Konno Hiroki, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 27
2. 論文標題 Single-Unit Imaging of Membrane Protein-Embedded Nanodiscs from Two Oriented Sides by High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 152 ~ 160
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.09.005	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 Tanaka Yoshiki, Izumioka Akiya, Abdul Hamid Aisyah, Fujii Akira, Haruyama Takamitsu, Furukawa Arata, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 505
2. 論文標題 2.8-A crystal structure of Escherichia coli YidC revealing all core regions, including flexible C2 loop	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 141 ~ 145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.09.043	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 Tsukazaki Tomoya	4. 巻 365
2. 論文標題 Structure-based working model of SecDF, a proton-driven bacterial protein translocation factor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fny112
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fny112	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, Nakayama Shintaro, Yoshikaie Kunihito, Tanaka Yoshiki, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 26
2. 論文標題 Remote Coupled Drastic α -Barrel to β -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) 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 -

1. 著者名 塚崎智也	4. 巻 58
2. 論文標題 タンパク質膜透過装置の構造生物学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 78 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

3版

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 Single-Unit Imaging of Membrane Protein-Embedded Nanodiscs by High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 EMBO Workshop: CURRENT ADVANCES IN PROTEIN TRANSLOCATION ACROSS MEMBRANES (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 Working model of SecDF inferred from structural studies
3. 学会等名 Joint Symposium ~ The 10th symposium on International Collaborative Laboratories ~ BioTechnology Institute, U. Minnesota & Grad School BioScience, NAIST (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 Drastic conformational changes of SecDF
3. 学会等名 BACTERIAL PROTEIN EXPORT 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 High-speed AFM imaging of membrane protein embedded in Nanodisc
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚崎智也
2. 発表標題 結晶構造解析から明らかとなってきたタンパク質膜透過モーター SecDF の劇的な構造変化
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1 1. 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）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

構造生命科学研究室に在籍されていた古川新さんが、井上研究奨励賞を受賞
<https://bsw3.naist.jp/research/index.php?id=1777>