

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 27 年度）

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 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成 27 年度～平成 28 年度
5. 課 題 番 号

1	5	K	1	4	4	9	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 ナノディスクを用いた新しい再構成系の構築と蛋白質分泌マシーナリーの動的精密探査

7. 研究代表者

研究 者 番 号	研究 代 表 者 名	所 属 部 局 名	職 名
2 0 4 6 7 6 1 6	ヨシカイエ クニヒト 吉海江 国仁	バイオサイエンス研究科	研究員

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

Secトランスロコンを経由するタンパク質の膜透過は、すべての生物に保存された基本的な細胞内機構の一つである。イオンや小分子の透過を最小限に、タンパク質という巨大な分子を膜透過させるためには緻密なマシーナリが必要である。大腸菌のSecトランスロコンはSecYEG膜タンパク質複合体で構成され、タンパク質透過孔を形成する。SecYEG複合体は単独では機能することができず、別途エネルギーが必要である。細胞質膜に局在に存在するSecA ATPaseはSecYEG複合体と相互作用し、加水分解のエネルギーによる反復運動することによって段階的に、基質タンパク質をSecYEG複合体内に押し込み、タンパク質を膜透過させる。このようなタンパク質の膜透過は生命にとって必須の機構であるため、古くから研究が進められ2000年頃からは各Secタンパク質の立体構造情報が報告された。現在は、構造情報に基づく機能解析に多くの研究がシフトしているが、未だなおこれらSecタンパク質が何両体で機能しているのか、また、どのような構造変化を伴ってタンパク質を膜透過させているのかの詳細については不明である。本研究ではタンパク質の膜透過を *in vitro* で再現し、高速AFM等を用いてタンパク質膜透過反応を可視化すべく準備を進めた。

10. キーワード

(1) 蛋白質	(2)	(3)	(4)
(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)

タンパク質膜透過反応の可視化にむけた準備段階として、再構成 1 ユニット系でのタンパク質膜透過反応を in vitro で構築した。次年度、論文として発表予定である。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

タンパク質膜透過反応では、蛋白質という巨大な分子を透過させるため、膜の両側に十分なスペースを確保することが必須である。本研究では、ナノパーティクルへ SecYEG を再構成し、その粒子を解析可能な形で膜へと固定し、高速 AFM による観察を進める予定である。タンパク質膜透過反応の実態については、これまでいくつかのモデルの提唱がなされている。しかしながら、1 ユニットのサンプルを用いて膜透過過程を時間依存的に解析した例はなく、本研究で進める動的解析が成功すれば、初めてタンパク質膜透過反応の可視化に成功することになる。高速 AFM の空間分解能はサブナノメートル程度であり、分解能は結晶構造解析にくらべると劣るが、オリゴマー状態や各ドメインの構造変化の追跡は可能である。各因子の構造は既知でありアミノ酸残基レベルでの解析も可能である。本研究により、時間依存的な膜透過反応を捉えれば、当該領域に新たな考え方を提供することになる。

(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 : 15K14490)

(注) ・印刷に当たっては、A 4 判 (縦長) ・両面印刷すること。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

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

著 者 名	論 文 標 題				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
オープンアクセス					

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

発 表 者 名	発 表 標 題	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所

(図書) 計(1)件

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)	

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

--