

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	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	塚崎 智也		

1. 研究種目名 挑戦的研究（萌芽） 2. 課題番号 19K22395

3. 研究課題名 新しい膜蛋白質含有ナノ粒子の構築と蛋白質膜組過程の精密探査

4. 補助事業期間 令和元年度～令和2年度

5. 研究実績の概要

タンパク質の動態をより詳細に解析するためには、これらの静止状態の構造だけでなく1ユニット(反応最小単位)での動的な解析が欠かせない。膜タンパク質は細胞膜に存在し、シグナル伝達、エネルギー変換、イオンやタンパク質の輸送といった細胞内の重要な機能を担っている。膜タンパク質の機能や構造は、脂質二重膜中に存在することで維持され、膜タンパク質が構造変化することでこれらの機能を発揮する。膜タンパク質の機能を明らかにするためには、脂質二重膜中で膜タンパク質の構造変化を観察する必要がある。従来法(例:細胞膜の状態;リボソーム再構成;平面膜再構成など)では、膜の占める領域が広く、膜の流動性なども問題となり、詳細な解析の妨げとなっている。そこで、我々はナノディスクと呼ばれるリン脂質が膜骨格タンパク質などに囲まれたディスク状の脂質二重膜と高速原子間力顕微鏡(高速AFM)を用いて、膜タンパク質の構造変化を観察する系を構築した。高速AFMは高い時間分解能と空間分解能を持ち、タンパク質を支持基板に固定することでそのダイナミクスをリアルタイムで観察することができる。一方で、ナノディスクは膜タンパク質を細胞膜に近い環境で保持でき、膜タンパク質1分子を溶液中で扱うことを可能にする。典型的な膜タンパク質としてSecYEGなどをナノディスクに再構成し、支持基板に固定して高速AFMで観察したところ、ナノディスクと膜タンパク質の可溶性ドメインの構造を確認できた。本年度はSecタンパク質の変異体を用いて、機能発現中に大きく動くドメインがあることを明らかとした。昨年度に観察できたいくつかの反応中間体は、機能欠失変異体を用いた解析では中間体を形成できないことを示し、観察データの信頼性を大幅に向上させた。また、論文発表に向け質の高いデータ収集を進めた。

6. キーワード

膜タンパク質

7. 研究発表

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tanaka Yoshiki, Yoshikaie Kunihiro, Takeuchi Azusa, Ichikawa Muneyoshi, Mori Tomoyuki, Uchino Sayaka, Sugano Yasunori, Hakoshima Toshio, Takagi Hiroshi, Nonaka Gen, Tsukazaki Tomoya	4. 巻 6
2. 論文標題 Crystal structure of a YeeE/YedE family protein engaged in thiosulfate uptake	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaba7637
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aba7637	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

3版

1. 著者名 Daimon Yasushi, Narita Shin-ichiro, Miyazaki Ryoji, Hizukuri Yohei, Mori Hiroyuki, Tanaka Yoshiki, Tsukazaki Tomoya, Akiyama Yoshinori	4. 巻 117
2. 論文標題 Reversible autoinhibitory regulation of Escherichia coli metalloproteinase BepA for selective barrel protein degradation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 27989 ~ 27996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2010301117	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 92
2. 論文標題 構造解析からみえてきたタンパク質膜透過駆動モーター膜タンパク質SecDFの仕組み	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 717 ~ 721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920717	査読の有無 無
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	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 長池航, 板家成良, 春山隆充, 塚崎智也, 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間顕微鏡によるタンパク質膜輸送装置Secの動態観察
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長池航, 板家成良, 春山隆充, 塚崎智也, 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間顕微鏡による膜輸送装置Secの動態観察
3. 学会等名 令和2年度中部支部講演会および 総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長池航, 春山隆充, 塚崎智也, 内橋貴之
2. 発表標題 Observation of Substrate Binding Sec Translocon and Structural Change of SecA with HS-AFM
3. 学会等名 The 58th Annual Meeting of the BSJ (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 浜窪隆雄, 津本浩平	4. 発行年 2020年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 538(307-315)
3. 書名 膜タンパク質工学ハンドブック	

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

共同研究相手国	相手方研究機関			
ロシア連邦	味の素 - ジェネチカ・リサーチ・インスティテュート社	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

【研究代表者・所属研究機関控】

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

3版

11.備考

奈良先端大 構造生命科学 研究業績
<https://bsw3.naist.jp/tsukazaki/publication.html>