

平成 2 3 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）

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(C) 4. 補助事業期間 平成 2 1 年度 ~ 平成 2 4 年度

5. 課題番号

2	1	5	8	0	0	9	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題 大腸菌ペリプラズムにおけるタンパク質ジスルフィド結合形成機構の解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
7 0 2 2 4 5 5 8	カドクラ ヒロシ 門倉 広	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

大腸菌ペリプラズムでは、DsbAが基質である分泌タンパク質にジスルフィド結合を導入する。本研究ではそのメカニズムを明らかにすることを目的としている。今年度は、主に、前年度に引き続き次の2つのタンパク質について解析をおこなった。

(1)大腸菌外膜 パレルタンパク質LptD(LptDとImplは同一のタンパク質；以下、LptDを使います)
LptD/LptE複合体は大腸菌の外膜でリボ多糖を運ぶためのトランスロコン（輸送装置）として機能する。このうち、LptDは、分子内に2組のジスルフィド結合をもつ。本研究でLptDの生合成の過程で形成するジスルフィド結合形成中間体の構造を詳しく調べたところ、最終的な局在部位である外膜への輸送と、パートナーであるLptEとの複合体形成に依存して、LptD分子内のジスルフィド結合の再配列が誘起され、LptDが活性型のタンパク質に折り畳まれることが分かった。複合体中、LptD部分がリボ多糖を輸送するための孔を形成するのに対して、LptE部分は孔を制御するための栓として働く。よって、このジスルフィド結合形成システムは、LptDの無秩序な活性化を抑制し、LptDが機能すべき場所で、適切な制御因子の存在下、活性化し、働くことを可能にする仕組みだととらえることができる。この成果は2012年9月にScience誌に発表した。

(2)大腸菌ペリプラズム酵素PhoA
前年度私はPhoAのN末側のジスルフィド結合が形成される際の中間体を検出することに成功した。今年度は、この中間体の構造を調べた。その結果、ジスルフィド結合を形成するPhoAのN末側の2個のシステインのうち特定のシステインだけがDsbAとの共有結合複合体の形成に使われることが判明した。なぜ、基質上の特定のシステインのみが酵素との中間体形成に使われるのかは今後の重要な課題である。

10. キーワード

(1) ジスルフィド結合

(2) ペリプラズム

(3) 立体構造形成

(4) 外膜

(5) DsbA

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

23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

(今後の推進方策)

23年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成23年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(1)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題【掲載確定】			
Chng, S.S.		Disulfide rearrangement triggered by translocon assembly controls lipopolysaccharide export.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Science	有	337	2 0 1 2	1665-1668	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1126/science.1227215					

〔学会発表〕計(2)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
門倉 広		哺乳動物細胞小胞体におけるジスルフィド結合形成を解析する為の新規レポーターの作成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会2012年度大会	2012年03月23日	京都女子大学	

発表者名		発表標題	
門倉 広		反応中間体の解析から見えてきた、生体内における分泌蛋白質の酸化的フォールディングの仕組み	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本生化学会大会(招待講演)	2011年09月21日	京都国際会館	

(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. 備考

--