

平成22年度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. 研究期間 平成21年度～平成23年度
5. 課題番号

2	1	5	8	0	0	9	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 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
70224558	カドクラ 門倉	ヒロシ 広	バイオサイエンス研究科 研究員

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

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

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

ジスルフィド結合の形成は、産業上有用なタンパク質を含む、多くの分泌タンパク質が正しい立体構造を形成する上で必須のステップである。その理解に向けて平成22年度は以下の解析を行った。

1. 本研究では、これまでに、大腸菌分泌タンパク質 PhoA（2個のジスルフィド結合をもつ）のC末側のジスルフィド結合を形成する際に生じる中間体（酵素・基質複合体）を検出しその解析から多くの知見を得た（前年度、Cell誌に発表）。しかし、タンパク質の個々のジスルフィド結合によっては、その形成過程で生じるはずの中間体の寿命が非常に短くその検出が困難なため研究を進める上での障害になっていた。そこで、今年度、実験手法の改善を進めた結果、これまで検出できなかったいくつかの短寿命の中間体を生体内において新たに検出することに成功した。このような技術的なブレークスルーによって初めて私は 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。

2. Imp(LptD)は大腸菌外膜に局在するβ-バレル型のタンパク質であり分子内に2組のジスルフィド結合をもつ。しかし、Impのもつ、2組のジスルフィド結合が、どのような仕組みで形成されるかは未だ不明である。今年度は、上記と同様の方法により、Impにおけるジスルフィド結合形成の中間体と考えられる分子を生体内で検出することに成功した。今後は、この分子の構造と挙動を詳細に解析し、その形成機構を調べていく予定である。

3. 大腸菌の内膜にはシステインのシャトルシステムが存在すること、および、このシステムがジスルフィド結合形成促進酵素DsbAの活性化状態に影響を及ぼしうることを世界で初めて発見しその内容を論文にまとめ、JBC誌に報告した。

10. キーワード

- | | | |
|-----------|------------|------------|
| (1) 微生物機能 | (2) ジスルフィド | (3) 立体構造形成 |
| (4) 分泌 | (5) DsbA | (6) |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11. 研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（3）件 うち査読付論文 計（2）件

著者名	論文標題				
Kadokura, H.	Mechanisms of oxidative protein folding in the bacterial cell envelope.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Antioxid. Redox Signal.	有	13	2	0	1 0
					1231-1246

著者名	論文標題				
門倉 広	分泌タンパク質にジスルフィド結合を形成する仕組み：ジスルフィド結合形成反応中間体の検出				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
化学と生物	無	48	2	0	1 0
					695-705

著者名	論文標題				
Ohtsu, I.	The L-cysteine/L-cystine shuttle system provides reducing equivalents to the periplasm in <i>Escherichia coli</i> .				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
J. Biol. Chem.	有	285	2	0	1 0
					17479-17487

〔学会発表〕 計（2）件 うち招待講演 計（2）件

発表者名	発表標題		
Kadokura, H.	Mechanisms of oxidative protein folding in vivo: Novel features revealed by the analysis of disulfide-linked enzyme-substrate complexes.		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第3回タンパク質社会の国際会議（国際会議招待講演）	2010年9月14日	ホテル日航奈良	

発表者名	発表標題		
門倉 広	生体内で分泌蛋白質にジスルフィド結合を形成する仕組み：ジスルフィド結合形成反応中間体の検出およびその解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質学会大会（招待講演）	2010年6月16日	札幌コンベンションセンター	

〔図書〕 計（0）件

著者名	出版社		
	書名	発行年	総ページ数

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--