

平成21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
7 0 2 2 4 5 5 8	フリガナ 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(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
	フリガナ		

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。従って、その仕組みの理解は基礎と応用の両面から重要である。その理解に向けて以下の解析を行った。

1. 大腸菌ペリプラズムでは酵素DsbAが分泌タンパク質にジスルフィド結合を導入する。その反応過程で、DsbAと基質が分子間ジスルフィド結合で連結された中間体を形成する。生体内で進行するジスルフィド結合形成の仕組みを理解するためには、この中間体を検出し解析することが必要である。しかし、この中間体は検出が難しく、その解析は遅れていた。本研究において、研究代表者らは、大腸菌の分泌タンパク質のひとつ(PhoA)において、ジスルフィド結合形成反応中間体のひとつを生体内で検出するとともに、この中間体を経てジスルフィド結合を形成する過程を追跡することに世界で初めて成功した。中間体の解析から、ジスルフィド結合形成過程に関して様々な新知見を発見し論文として報告した。

2. Impは大腸菌の外膜に局在するβバレル型のタンパク質である。分子内には2組のジスルフィド結合が存在するが、その形成には上記のDsbAだけでなくペリプラズムの分子シャペロンである、SurAが必要であることが予備的な実験から明らかになっている。分子シャペロンを必要とするこのユニークな、Impにおけるジスルフィド結合形成の仕組みを理解するために、まず、Imp分子内に形成されるジスルフィド結合がどのシステイン間に形成されているのかを明らかにした。そのためには、Impの点変異体と生化学的手法を利用した。この知見はImpにおけるジスルフィド結合形成を理解する上で必須の情報であり今後の解析において重要になってくる。

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21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			
Kadokura, H., Beckwith, J.	Detecting folding intermediates of a protein as it passes through the bacterial translocation channel.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Cell	有	138	2009	1164-1173

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

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

〔学会発表〕 計（ 1 ）件 うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
門倉 広、河野 憲二、Beckwith, John	生体内における分泌タンパク質ジスルフィド結合形成反応中間体の解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会	2010年3月29日	東京大学駒場キャンパス（東京都）	

〔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。

--