

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058007

研究課題名（和文） 大腸菌膜タンパク質の機能発現と秩序維持機能

研究課題名（英文） Quality control of E. coli membrane proteins

研究代表者

秋山 芳展 (AKIYAMA YOSHINORI)

京都大学・ウイルス研究所・教授

研究者番号：10192460

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物化学

キーワード：大腸菌、膜タンパク質、品質管理

1. 研究計画の概要

本研究では、大腸菌における膜タンパク質の生合成、機能維持と制御、分解等の諸過程をグローバルな「品質管理機構」としてとらえ、これに関わる因子の作用メカニズムと相互作用、並びに生理的役割の全体像を解明することを目的とする。膜タンパク質が正しく機能を発現するための「品質管理」は、膜機能、ひいては細胞機能の維持に欠くことが出来ない。本研究は生物種を越えた「膜タンパク質品質管理ネットワーク機構」を理解することに寄与する。本研究はこれまでの申請者らの研究を総合・発展させ、ネットワークとして膜タンパク質の品質管理をとらえて研究するものである。

2. 研究の進捗状況

(1) 膜タンパク質の biogenesis/assembly 機構

モーター因子 SecA ATPase との結合状態を模した SecYE トランスロコンの新たな「機能中間体」構造を解明すると共に、両者の *in vivo* での相互作用部位をアミノ酸残基レベルで同定した。また、表層ストレス応答の誘導を指標として新たな secY 変異の分離を行い、膜タンパク質の正しい膜組み込み、分泌タンパク質の膜透過、それぞれに特異的な欠損を持つ種々の変異を取得した。SecA モチーフ IV 領域変異解析から、この領域が、SecA の機能調節エレメントとして重要な役割を持つ可能性を示唆した。SecD/SecF の構造を決定し、その機能の解析を進めつつある。

(2) 表層・膜ストレス応答機構

異常膜タンパク質の蓄積が、表層ストレス応答を活性化させることを示した。S2P ファミリー膜内切断プロテアーゼ RseP の PDZ ドメインに関する機能解析を行い、構造を決定した。異常タンパク質が、通常 σ^E 経路に必須である DegS に非依存的に表層ストレス応答を誘導することを見出し、その機構を解析しつつある。

(3) 膜タンパク質分解機構

生化学的手法により、RseP 及び rhomboid family に属する大腸菌のもう一つの膜内切断プロテアーゼ GlpG の活性部位の環境や、基質認識・結合メカニズムについて解析した。RseP がシグナルペプチド分解に関わることを明らかにした。変異型 GlpG の結晶構造を明らかにし、GlpG の基質切断機構や活性調節機構を提案した。膜タンパク質品質管理に関わる FtsH の構造・機能解析も進めている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

本研究の 3 つの柱である、膜タンパク質の biogenesis/assembly 機構、表層・膜ストレス応答機構、膜タンパク質分解機構の解析いづれも着実に成果を挙げている。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 膜タンパク質の biogenesis/assembly 機構

特に構造情報を元にした SecD/SecF の機能解析を進め、プロトン駆動力との関係を明らかにしていく。膜タンパク質膜組み込みに

関わる細胞因子 YidC の構造解析は難航しているが、これも鋭意進める。

(2) 表層・膜ストレス応答機構

異常膜タンパク質による膜ストレス応答活性化機構について、ストレスシグナルの認識、情報伝達機構に注目しての解析を進める。

(3) 膜タンパク質分解機構

特に本研究から存在を示唆した RseP PDZ ドメインリガンドの探索を進め、PDZ ドメインの役割を明らかにする。RseP が一般に膜タンパク質品質管理に関わる可能性を追求する。GlpG の生理基質を探索し、その細胞機能を明らかにする。FtsH の構造解析を進め、エネルギー依存的基質分解サイクルの詳細を明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① Akiyama, Y. (2009) Quality control of cytoplasmic membrane proteins in *Escherichia coli* J. Biochem., 46, 449-454. 【査読有】

② Tsukazaki, T., Mori, H., Fukai, S., Ishitani, R., Mori, T., Dohmae, N., Perederina, A., Sugita, Y., Vassilyev, D. G., Ito, K. and Nureki O. (2008) Conformational transition of Sec machinery inferred from bacterial SecYE structures. Nature 455, 988-991. 【査読有】

③ Inaba, K., Suzuki, M., Maegawa, K., Akiyama, S., Ito, K., and Akiyama, Y. (2008) A pair of circularly permuted PDZ domains control RseP, the S2P family intramembrane protease of *E. coli*. J. Biol. Chem. 283, 35042-35052. 【査読有】

④ Maegawa, S., Koide, K., Ito, K., and Akiyama, Y. (2007) The intramembrane active site of GlpG, an *Escherichia coli* rhomboid protease, is accessible to water and hydrolyzes an extramembrane peptide-bond of substrates. Mol. Microbiol. 64, 435-447. 【査読有】

⑤ Shimohata, N., Nagamori, S., Akiyama, Y., Kaback, H. R., and Ito, K. (2007) SecY alterations that impair membrane protein

folding and generate a membrane stress. J. Cell Biol. 176, 307-317. 【査読有】

[学会発表] (計 32 件)