

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14640

研究課題名(和文) X線結晶構造解析によるミトコンドリアトランスロケータSAM複合体の構造基盤

研究課題名(英文) Structural study for mitochondrial translocator SAM complex.

研究代表者

竹田 弘法 (Takeda, Hironori)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：80816588

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリアが正常に機能するには、ミトコンドリア外膜に局在する様々なバレル膜タンパク質による物質輸送が不可欠である。これらのバレル膜タンパク質を膜へ埋め込むのが、SAM複合体である。我々は、SAM複合体と、基質タンパク質を膜へ埋め込んだ直後のSAM-Mdm10超複合体のクライオ電顕構造を決定し、SAM複合体による基質交換メカニズムを解明した。本研究は Nature へ掲載された。また、SAM複合体が基質タンパク質を膜へ埋め込む途中のクライオ電顕構造を決定し、その分子メカニズムの一端を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまでに全く明らかにされてこなかった、ミトコンドリア外膜に局在するバレル膜タンパク質の生合成に関する詳細な分子メカニズムを明らかにした、学術的に極めて重要な成果である。本研究により、ミトコンドリアがタンパク質を膜へ埋め込むSAM複合体が基質タンパク質を埋め込んだ後、Mdm10によって膜へリリースされるメカニズムが明らかとなったことで、ミトコンドリアのタンパク質がどのような過程で機能するに至るのかを、分子レベルで解明されたことになる。

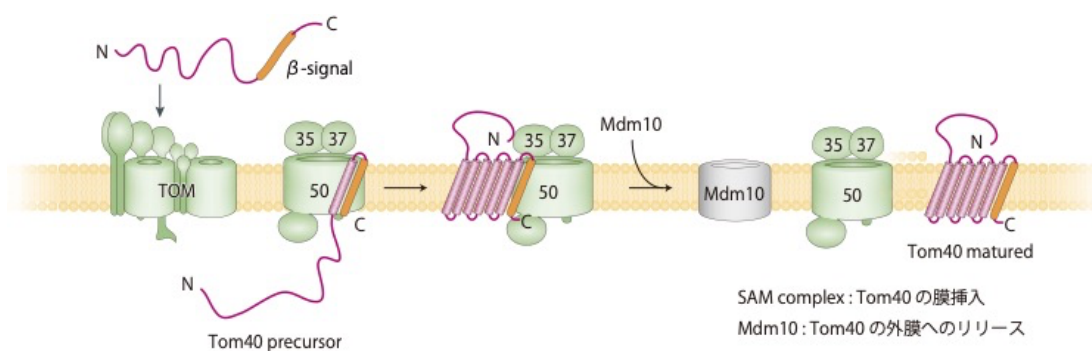
研究成果の概要(英文)： -barrel membrane proteins localised on the mitochondrial outer membrane is essential for transport of small molecules and mitochondrial functions. The SAM complex embeds these -barrel membrane proteins into the membrane. We determined the cryo-EM structures of the SAM complex and the SAM-Mdm10 supercomplex, and elucidated the substrate exchange mechanism by the SAM complex. This study was published in Nature. Moreover, we have successfully determined the cryo-EM structure of the SAM complex in the process of embedding the substrate protein into the membrane and also clarified a part of the molecular mechanism.

研究分野：構造生物学

キーワード：ミトコンドリア クライオ電子顕微鏡

### 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリアは、ATP を合成するエネルギー工場として機能する、真核生物に必須のオルガネラである。ミトコンドリアが正常に機能するためには、ミトコンドリア外膜に局在する  $\beta$  バレル膜タンパク質が様々な物質を輸送する必要がある。この  $\beta$  バレル膜タンパク質をミトコンドリア外膜へ挿入するのが、SAM 複合体である。SAM 複合体は、基質タンパク質を膜へ埋め込んだ後、構造的に成熟した基質を SAM 複合体から膜へとリリースする。しかし、どのようにしてこのリリース反応が起こるのかは不明であった。

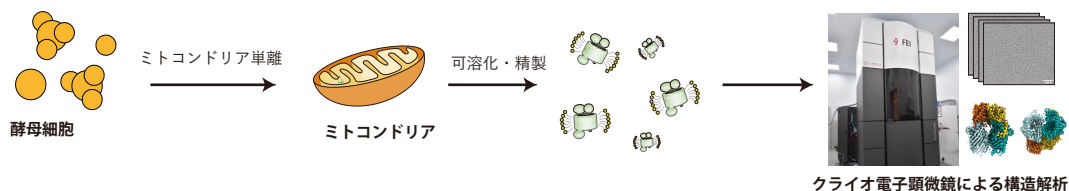


### 2. 研究の目的

本研究では、Mdm10 による、SAM 複合体に結合した基質タンパク質のリリース反応を、構造生物学的手法によって解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

Mdm10 は、基質との交換反応によって、基質を SAM 複合体から解離させると考えられてきた。すなわち、Mdm10 が基質を解離させた後、Mdm10 は SAM 複合体と結合し SAM-Mdm10 超複合体を形成することで、基質を SAM 複合体から追い出す。我々は、酵母細胞を用いて、SAM-Mdm10 超複合体

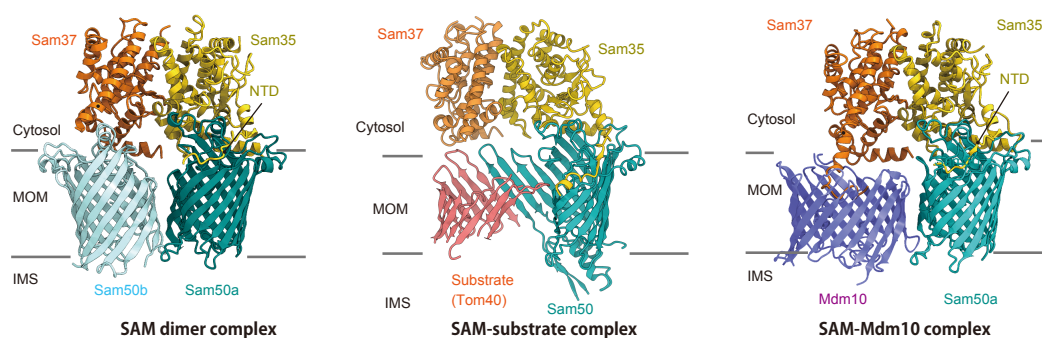


を大量精製し、クライオ電子顕微鏡による構造解析によって、SAM-Mdm10 超複合体の立体構造を明らかにした。さらに、ミトコンドリアインポートと呼ばれる分子生物学的な手法によって、Mdm10 による基質リリース反応の詳細な分子メカニズムを解析した。

#### 4. 研究成果

SAM-Mdm10 超複合体のクライオ電顕構造では、膜タンパク質 Sam50 と Mdm10 のヘテロダイマーが形成され、それをキャップするような位置に可溶性タンパク質 Sam35/Sam37 が結合していた。さらに、Sam37 の長い  $\alpha$  ヘリックスが Mdm10 のチャンネルポアに貫通することで、SAM-Mdm10 超複合体が構造的に安定化されていた。さらに、分子生物学的手法により、Mdm10 は基質と結合した SAM 複合体に結合せず、基質と入れ替わった状態で、すなわち、SAM-Mdm10 超複合体として振る舞うことが証明された。これらの結果から、我々は、Mdm10 による SAM 複合体の基質交換反応「 $\beta$  バレルスイッチ」を提唱した。本研究成果は Nature に掲載された。

さらに我々は、SAM 複合体に結合したまま、解離しない基質変異体を探索した。この基質変異体を用いて、SAM-基質複合体の構造解析をおこなった結果、SAM-基質超複合体の構造解析に成功した。この構造は、SAM 複合体が基質を膜へ埋め込むと同時に、 $\beta$  バレル構造へと成形する瞬間を捉えたものであり、その分子メカニズムの一端を解明する、重要な成果である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takeda Hironori, Tsutsumi Akihisa, Nishizawa Tomohiro, Lindau Caroline, Busto Jon V., Wenz Lena-Sophie, Ellenrieder Lars, Imai Kenichiro, Straub Sebastian P., Ogasawara Satoshi, Nureki Osamu, Becker Thomas, Pfanner Nikolaus, Wiedemann Nils, Kikkawa Masahide, Endo Toshiya	4. 巻 590
2. 論文標題 Mitochondrial sorting and assembly machinery operates by -barrel switching	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 163 ~ 169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-03113-7	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹田弘法
2. 発表標題 Cryo-EM structure of mitochondrial translocator SAM complex.
3. 学会等名 日本蛋白質学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹田弘法
2. 発表標題 クライオ電子顕微鏡を用いたミトコンドリア外膜トランスロケーターSAM複合体の構造解析
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ミトコンドリアにバレル(円筒)型膜タンパク質を組み込む仕組みを解明  
<http://www.s.chiba-u.ac.jp/pr/files/20210107mitochondria2.pdf>  
ミトコンドリアにバレル(円筒)型膜タンパク質を組み込む仕組みを解明  
[https://www.kyoto-su.ac.jp/news/2021\\_1s/20210108\\_198\\_release.html](https://www.kyoto-su.ac.jp/news/2021_1s/20210108_198_release.html)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 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
---------	---------