

平成 22 年 4 月 24 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058013

研究課題名（和文）膜タンパク質のオルガネラ標的化と構造形成システム

研究課題名（英文）Organelle targeting and integration of membrane proteins

研究代表者 阪口 雅郎（兵庫県立大学大学院・生命理学研究科・教授）

研究者番号：30205736

研究分野：機能生物化学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：膜蛋白質，シグナル配列，トポロジー，生体膜，オルガネラ

1. 研究計画の概要

膜タンパク質の機能構造の形成と適切な場所への配置に関わる「機能発現と秩序維持システム」の理解を目的とする。

（1）小胞体における膜タンパク質の構造形成の全容を明らかにする。

①多数のイオンチャネルで見出される正電荷を有する膜貫通セグメントの膜組み込み機構を明らかにする。電位依存性 K⁺チャネル、及びロドプシンを取り上げる。

②小胞体トランスロコンの動態を解析する。我々の開発した膜透過を制御できる無細胞膜組み込み実験系によって様々な膜組み込み中間状態を作製し、膜組み込み時の水環境の探査を行う。

③トランスロコンの機能構造の解明を目指して、膜組み込みが途中停止したリボソーム・新生ポリペプチド鎖・トランスロコン複合体の単離系を確立する。

（2）膜タンパク質の小胞体以外のオルガネラへの標的化機構の解明。

①ミトコンドリアやペルオキシソームに存在する ABC 輸送体アイソフォームの小胞体回避機構を解明する。

②これらの ABC 輸送体アイソフォームの膜組み込みおよび構造形成を小胞体の系と対比しながら明らかにする。

（3）C-アンカー膜タンパク質の局在制御と組み込み機構

①各オルガネラ膜に局在する C-アンカー膜タンパク質の標的化シグナル認識機構を解析する。

2. 研究の進捗状況

（1）小胞体での膜タンパク質の構造形成に

ついて。

①小胞体トランスロコンでは、親水性の膜透過途上のポリペプチド鎖が二本同時に保持されることを発見した。トランスロコンの驚異的な柔軟性を見出した画期的なものとして論文誌（*J.Cell Biol.*誌，179 巻）のハイライトとして取り上げられ、解説記事が掲載された。

②電位依存性カリウムイオンチャネルの正電荷が多数存在する膜貫通セグメント(S4)の膜組み込み機構を明らかにした。

③トランスロコンでは、透過途上ポリペプチド鎖の正電荷が、逆方向の動きを誘導できることを発見した。さらに、正電荷による膜透過輸送の減速を証明した。

④小胞体トランスロコンでは、シグナル配列自体がポリペプチド鎖を輸送するための駆動力を発現していることを証明した。さらに、シグナル配列の作用時の水環境変動を明らかにした。

（2）膜タンパク質の小胞体標的化回避について

①ABC 輸送体 B6 及び D4 アイソフォームが分泌系路オルガネラに存在することを証明し、これらがミトコンドリアやペルオキシソームにあるとする定説を覆した。

②ペルオキシソーム ABC 輸送体 D3 アイソフォームについて、アミノ末端部に複数のオルガネラ標的化作用があること示した。

③D3 アイソフォームには、アミノ末端部に小胞体標的化を抑制する十数残基のモチーフが存在することを明らかにした。そのきわめて特異的なアミノ酸配列依存性を明らかにした。

（3）C-アンカー膜タンパク質の特異的輸送

機構について

①ミトコンドリア指向性 C-アンカーシグナル配列に結合する因子候補を，酵母ツーハイブリッド法で複数取得した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している
(理由)

いくつかの計画項目において，当初の期待以上に明確な結論が得られている。さらに，計画には無かった発見が得られ，それらをもとに研究が大きく展開している。一部，到達していない項目もあるが，全体的に見ると，計画以上に進展を見ていると判断される。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 小胞体系トランスロコンでのポリペプチド鎖の動態を詳細に追求する。この際，分子シミュレーション分野，タンパク質-分子観察の物理研究者と協同し，タンパク質輸送の物理原理に迫る。また，リボソームにおけるポリペプチド鎖の伸長反応が膜透過を駆動する可能性について決着をつける。

(2) 小胞体以外への膜タンパク質の輸送に関する，認識関連因子の特定に力を入れる。

(3) C-アンカー膜タンパク質のシグナル認識因子の特性解析を進める。

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 9 件)

- ① Kida, Y., Kume, C., Hirano, M., and Sakaguchi, M. (2010) (査読有)
Environmental transition of signal-anchor sequences during membrane insertion via the endoplasmic reticulum translocon
Mol. Biol. Cell, 21, 418-429.
- ② Fujita, H., Kida, Y., Hagiwara, M., Morimoto, F., and Sakaguchi, M. (2010) (査読有)
Positive charges of translocating polypeptide chain retrieve an upstream marginal hydrophobic segment from ER lumen to translocon
Mol. Biol. Cell, in press.
- ③ Kida, Y., Morimoto, F., and Sakaguchi, M. (2009) (査読有)
Signal-anchor sequence provides motive force for polypeptide-chain translocation through the ER membrane
J. Biol. Chem. 284, 2861-2866
- ④ Kida, Y., Morimoto, F., and Sakaguchi, M. (2007) (査読有)
Two translocating hydrophilic segments

of a nascent chain span the ER membrane during multispanning protein topogenesis
J. Cell Biol. 179, 1441-1452.

- ⑤ Zhang, L., Sato, Y., Hessa, T., von Heijne, G., Lee, J.-K., Kodama, I., Sakaguchi, M., and Uozumi, N. (2007) (査読有)
Contribution of hydrophobic and electrostatic interactions to the membrane integration of the Shaker K⁺-channel voltage-sensor domain
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 8263-8268.

[学会発表] (計 27 件)

- ① 阪口雅郎
小胞体トランスロコンでの膜透過停止とポリペプチド鎖のダイナミクス (第 82 回日本生化学会大会, 2009 年 10 月 21-24 日, 神戸)

[図書] (計 6 件)

- ① 阪口雅郎 (2010) (査読有)
粗面小胞体とタンパク質合成
細胞の構造とオルガネラ (生物薬科学実験講座 5, 大熊勝治・中西義信編集、廣川書店) 33-46

[その他]

ホームページ

<http://www.sci.himeji-tech.ac.jp/life/biochem1/index-j.html>