

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：11201

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2015～2019

課題番号：15KT0073

研究課題名(和文)大腸菌細胞質膜をモデルシステムとした生体膜の創成

研究課題名(英文)Building biomembranes using E. coli membranes as a model system

研究代表者

西山 賢一 (Nishiyama, Ken-ichi)

岩手大学・農学部・教授

研究者番号：80291334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体膜と(プロテオ)リポソームとの差異に解明し、生体膜を創成することを目的として研究を進めた。特に(1)リポソームでは膜タンパク質が無秩序かつ自発的に膜挿入する、(2)リポソームは機械的強度、化学物質に対する耐性度が膜小胞より著しく低いという点に着目した。その結果、自発的膜挿入がジアシルグリセロールやコレステロールにより抑制される分子機構について、コンピュータシミュレーションの結果も交えて明らかにした。また、生体膜に機械的強度、化学物質に対する耐性度を与える因子を同定し、構造解析を開始した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質膜挿入反応は、リポソームを用いた試験管内再構成系が考案され、詳細な分子機構が解析されているが、無秩序な自発的膜挿入を排除するのが困難であるため、タンパク質膜挿入機構が正しく解析されていなかった。そのため、報告により膜挿入機構が異なるなど大きな問題となっていた。この自発的膜挿入を抑制することにより、普遍的で統一的な膜挿入機構を明らかにすることができた。

生体膜に機械的強度、化学物質に対する耐性度を与える因子は、リポソームを用いたドラッグデリバリーシステムを安定化させる等の作用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the differences between biomembranes and artificial (proteo)liposomes, in order to build biomembranes. The differences include some points that membrane proteins spontaneously and disorderly insert into liposomes (1) and that the physical strength and resistance against chemical compounds in liposomes are significantly weaker than those in biomembranes. We clarified the molecular mechanisms underlying the blockage of spontaneous insertion by diacylglycerols and cholesterol, which was confirmed by computer-simulation analysis. Moreover, we identified a membrane component that gives the physical strength and resistance against chemical compounds to biomembranes. The structure determination the compound is on progress.

研究分野：生化学、ケミカルバイオロジー

キーワード：リポソーム タンパク質膜挿入 生体膜保護物質 ジアシルグリセロール コレステロール MPlase

1. 研究開始当初の背景

生物を構成する基本単位は細胞である。生体膜は、細胞が自己と外界を区別する閾となっており、物質や情報のやり取りを制御し、エネルギー産生にも大きな役割を果たしているだけでなく、自己を保持するための機械的強度も提供している。生体膜は、一般的には、リン脂質が親水的な残基を一方に、疎水的な残基を反対方向に二次元的に並んだ層が、疎水的面を内部にした形で二層に配置された「リン脂質二重層」を形成し、その内部及び表面に膜タンパク質を配置して形成されていると考えられている。生物試料から膜画分を調製すると、生体膜で囲まれた球状の膜小胞が得られる(図1)。この膜小胞を模した人工的膜小胞であるプロテオリポソームを調製する方法が多く考案されており、膜タンパク質の機能解析に役立てられてきた。界面活性剤で可溶化したリン脂質や膜タンパク質を混合し、その後界面活性剤を透析等で除去することにより容易にプロテオリポソームが再構成できる。膜タンパク質が溶媒や界面活性剤に高濃度に溶解できるときは、膜タンパク質とリポソームを混合するだけでもプロテオリポソームの再構成が可能である。こうして調製したプロテオリポソームが生体膜小胞と全く同じとして扱えるのであれば、プロテオリポソーム内部にDNA、タンパク質発現システム等の細胞質成分を封入すると、最も単純な人工細胞とも呼べるものが出来上がる。こうした細胞質成分封入プロテオリポソームが、タンパク質合成、DNA複製などの主要生命活動のプログラムが作動し、細胞分裂を行うことができれば、このリポソームは人工細胞と呼ぶにふさわしいものと言え、ひいては「生物の創成」と言える。主要な生命活動のプログラムには、生体膜のバイオジェネシスが不可欠である。上記プロテオリポソームがリン脂質や膜タンパク質など、膜成分を合成でき、分裂まで可能になったときに、プロテオリポソームは「生体膜」と同等になると考えられる。タンパク質合成系を封入したリポソームで膜タンパク質や一部のリン脂質の合成が可能となっているなど、研究の萌芽は認められるものの、以下に示す点でリポソームと生体膜には大きな差異がある。

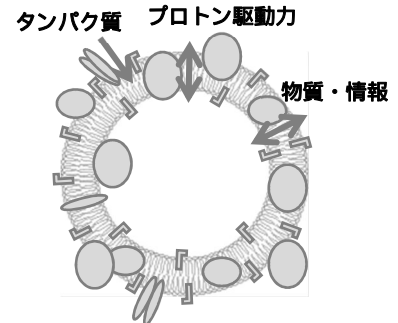


図1 大腸菌反転膜小胞(IMV)の構造。リン脂質二重層が小胞構造を形成し、内部、表面には膜タンパク質が存在する。膜を横断する物質・情報のやり取りや、プロトン駆動力の形成、膜脂質の生合成などを行うことができる。リポソームに比べて、IMVでは、膜タンパク質の膜挿入が厳密に制御され、機械的強度、化学物質に対する耐性度、ともに著しく高い。膜表面には、本研究で同定した膜を保護する物質(BPF; ■)が存在する。

- (1) リポソームでは膜タンパク質が無秩序かつ自発的に膜挿入する。
- (2) リポソームは機械的強度、化学物質に対する耐性度が膜小胞より著しく低い。

(1) に関しては、ジアシルグリセロール(DAG)を大腸菌細胞質膜小胞と同程度の濃度でリポソームに添加することによりほぼ完全にブロックできることを明らかにした。この知見を用いて、大腸菌における膜挿入因子の依存性を完全に再現したタンパク質膜挿入の再構成系を確立することに成功し、さらに、タンパク質膜挿入に関わる新因子の同定に至った。この因子は予想に反して糖脂質であり、その機能にちなみMPIase(Membrane Protein Integrase)と命名した。MPIaseは膜挿入にかかわる膜内在性因子SecYEGやYidCとも協調して作用することも明らかにした。これらの発見により膜タンパク質の合成・膜挿入が再構成できただけでなく、生体膜のバイオジェネシスにはタンパク質性因子以外の成分が重要な役割を果たしていることが強く示唆された。しかし、 F_0F_1 ATPaseのcサブユニット(F_0 -c)など一部の膜タンパク質に関しては、DAGだけでは自発的膜挿入が完全にはブロックされないことが報告されていた。さらに、大腸菌では発現していないフォスファチジルコリン(PC)で形成したリポソームでは、自発的膜挿入はDAGでは十分にブロックできないことも明らかになったため、DAG以外の自発的膜挿入の抑制システムが存在することが示唆されていた。

(2) については、(プロテオ)リポソーム懸濁液に高濃度のマグネシウム(10mM以上)やポリエチレングリコール(PEG)(0.5%以上)を添加すると、小胞構造が破壊され、凝集体が形成される。一方、大腸菌由来の膜小胞ではこうした凝集は観察されない。また、音波処理によりリポソームは容易により小さな小胞に変化する。(プロテオ)リポソーム作製時にDAGを添加した場合、機械的強度、化学物質に対する耐性度がわずかに上昇するが、膜小胞に比べるとまだまだ弱い。生体膜の創成のためには、上記2点の問題点を克服することが不可欠であった。

2. 研究の目的

本研究は、分子生物学的、生化学的な研究が多く蓄積している大腸菌をモデルシステムとして用いて上記2点の問題点を克服し、実際に生体膜創成を目指すことを目的とし、以下の研究を実施した。

- (1) 無秩序な自発的膜挿入の完全ブロックの試み

我々は、DAG をリポソームに加えることにより自発的膜挿入を大幅に低下させることができることを明らかにしたが、F₀-c については、DAG だけでは自発的膜挿入が完全にはブロックできないことが報告されていた。そこで、F₀-c の自発的膜挿入をブロックできる条件を検討する。さらに、PC リポソームで自発的膜挿入をブロックする条件を検討する。

(2) リポソームの機械的強度・化学物質に対する耐性度を上昇させる試み

大腸菌細胞質膜小胞(反転膜小胞; IMV)を界面活性剤で可溶化し、得られた上清(可溶化膜)から界面活性剤を除去するとプロテオリポソームが形成される。得られたプロテオリポソームでは自発的膜挿入活性は概ねブロックされているが、機械的強度・化学物質に対する耐性度は元の膜小胞に比べ大幅に低下する。再構成の過程で、生体膜に機械的強度・化学物質に対する耐性度を与える物質(BPF; Biomembrane-protecting factor と命名)が喪失したと考えられる。BPF を精製し、構造を決定する。

本研究を進めることにより、人工的な(プロテオ)リポソームを限りなく IMV のような生体膜に近づけることが可能になる。このことは生体膜の人工的な創生の大きな第一歩になると考えた。

3. 研究の方法

(1) 自発的タンパク質膜挿入のブロックに関して

F₀-c の自発的タンパク質膜挿入のブロック

F₀-c は、DAG が存在するリポソームでも自発的タンパク質膜挿入がブロックされないことが報告されている。F₀-c は膜を 2 回貫通し、N 末端、C 末端をペリプラズム(細胞外)に露出する配向性をもつ。試験管内でのタンパク質膜挿入実験では、膜に挿入した部分・領域が外部から加えたプロテアーゼ消化から保護されることを指標として解析される。膜挿入後、膜表面から露出した部分はプロテアーゼで消化され、膜内部に挿入した部分の断片が検出される。F₀-c では、膜挿入の結果、F₀-c 分子全体がプロテアーゼに耐性となると報告されている。そのため、膜挿入の結果プロテアーゼ消化から免れたのか、膜やリン脂質など膜成分と相互作用した結果プロテアーゼ耐性の構造を獲得したのか厳密には区別されていない。そこで、膜挿入した F₀-c は界面活性剤で可溶化後にプロテアーゼ感受性になるのに対し、プロテアーゼ耐性を獲得した F₀-c は界面活性剤存在下でもプロテアーゼで消化されないと考えた。

フォスファチジルコリン(PC)リポソームでの自発的膜挿入のブロック

PC はリポソーム形成によく使われるリン脂質であるが、大腸菌では PC は発現していない。PC リポソームでは DAG の効果は限定的であり、自発的膜挿入活性は約半減するものの完全ブロックには至らなかった。予備実験では大腸菌リン脂質にコレステロールを加えると、自発的膜挿入がブロックされることが判明していたので、PC リポソームでコレステロールの作用を調べる

(2) リポソームにおける機械的強度、化学物質に対する耐性度の低さの克服について

リポソーム凝集効果の定量的な評価系の確立

リポソーム懸濁液の濁度を測定し、高濃度マグネシウム(>10 mM)や PEG による凝集効果を定量的に評価する系を構築する。リポソームや大腸菌膜小胞(IMV)マグネシウムイオンや PEG を加えて保温し、濁度を測定し、これらの影響を定量的に評価する。

リポソームの機械的強度・化学物質に対する耐性度を増強させる因子(BPF)の精製

IMV を可溶化し、リポソームに再構成して Mg や PEG に対して耐性度を獲得するかどうか調べる。耐性度獲得が確認できたら、可溶化膜をプロテアーゼ、ヌクレアーゼ、グリコシダーゼ等の酵素処理を行い、BPF がどのような分子であるか明らかにする。さらに、酸処理、アルカリ処理で変化が生じるかどうか調べる。

続いて、Mg や PEG に対する耐性度獲得を指標に BPF を精製する。溶媒抽出、分配、カラムクロマトグラフィーなどを進め BPF の精製を進め、MS 分析や NMR 分析で構造を決定する。

4. 研究成果

(1) 自発的タンパク質膜挿入のブロックに関して

F₀-c の自発的タンパク質膜挿入のブロック

F₀-c はタンパク質膜挿入に関わる YidC の作用により膜挿入すると報告されている。実際、野生株から調製した IMV には膜挿入するが、YidC 枯渇株から調製した IMV では膜挿入効率が著しく低下していることが確認された。一方、タンパク質合成システムに非標識メチオニンを加えて F₀-c の合成レベルを上昇させると、YidC 枯渇 IMV でも野生型 IMV と同様、高い膜挿入活性が検出された。このとき検出される膜挿入断片は、F₀-c 膜挿入を反映していない可能性が考えられた。DAG を含むリポソームでも同様に高い膜挿入活性と考え得るプロテアーゼで消化されない

F₀-c が観察された。YidC 枯濁膜や DAG 含有リポソームで観察されるプロテアーゼで消化されない F₀-c は、膜挿入断片ではなく、プロテアーゼ耐性の構造を獲得した F₀-c が観察されている可能性を考え、DAG 含有リポソーム存在下で F₀-c を合成し、界面活性剤存在下でプロテアーゼ消化を行ったところ、F₀-c はプロテアーゼ耐性であった。一方、DAG を含まないリポソームで自発的膜挿入した F₀-c はプロテアーゼで完全に分解された。種々のリン脂質存在下で F₀-c を合成し、界面活性剤存在下でプロテアーゼ消化したところ、フォスファチジルグリセロール (PG) やカルジオリピン (CL) といった酸性リン脂質存在下では F₀-c は構造変化し、プロテアーゼ耐性の構造を獲得することが判明した (図 2、'transformation')。DAG 含有リポソームに MPIase を再構成しておく、F₀-c はプロテアーゼ耐性の構造に変化することなく膜挿入することが明らかとなった。MPIase 依存の膜挿入は、YidC を共存させることにより数倍に促進されることが判明した (図 2、'insertion')。これらのことから、F₀-c は DAG 含有リポソームであっても自発的膜挿入するのではなく、酸性リン脂質と相互作用することによりプロテアーゼ耐性の構造に変化することが明らかとなった。F₀-c、DAG により自発的膜挿入は抑制されるものの MPIase の作用により膜挿入し、さらに YidC の作用により膜挿入が促進されることが判明した。この膜挿入機構は、他の膜タンパク質と同様であることを実証した。

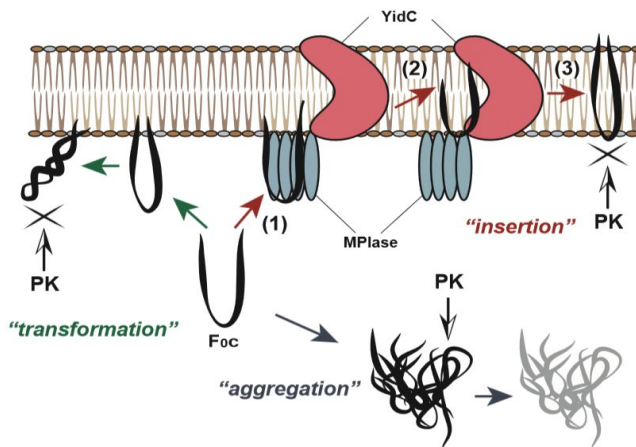


図 2 F₀-c の膜挿入機構。合成直後の F₀-c は MPIase と相互作用し凝集を免れる (1)。MPIase の作用により F₀-c は膜挿入する (2)。その後 YidC に受け渡され、膜挿入が完了する (3)。膜挿入した F₀-c はプロテアーゼ (PK) 消化から免れる ("insertion")。一方、酸性リン脂質 (灰色) と相互作用した F₀-c は構造変化し、PK 耐性となる ("transformation")。膜と相互作用しなかった F₀-c は凝集するものの、PK で消化される ("aggregation")。

フォスファチジルコリン (PC) リポソームでの自発的膜挿入のブロック
 大腸菌で発現していないリン脂質 PC で形成したリポソームに DAG を共存させても、自発的膜挿入の抑制効果は限定的であった。そのため、PC を含む真核生物では、自発的膜挿入を抑制する DAG 以外の物質が存在することが示唆されていた。コレステロールは大腸菌リン脂質から形成されるリポソームに共存させると自発的膜挿入の抑制効果が観察されていたため、PC リポソームにもコレステロールを導入し、自発的膜挿入が抑制されるかどうか調べた。その結果、生理的濃度のコレステロール含有 PC リポソームで自発的膜挿入の抑制が顕著に観察された。このことは、DAG がセカンドメッセンジャーとして重要な機能を果たす真核細胞では、DAG ではなくコレステロールが自発的膜挿入の抑制に大きな役割を果たしていることを示している。コンピュータ・シミュレーションでリン脂質二重層内における DAG とコレステロールの位置を解析したところ、化学構造は大きく異なっているにもかかわらずこれらの分子は同様の位置に局在することが明らかとなった (図 3)。すなわち、脂質二重層においてリン脂質の頭部の脂質側に形成される間隙がこれらの分子により埋められ、熱力学的に安定な構造を取り、これにより膜の疎水性物質に対する吸引力が抑制され、その結果、膜タンパク質の自発的膜挿入が抑制されることが明らかになった。

(2) リポソームにおける機械的強度、化学物質に対する耐性度の低さの克服について

リポソーム凝集効果の定量的な評価系の確立

リポソームや大腸菌 IMV に 5mM MgSO₂、3.2% PEG を加えると、リポソームのみで著しい凝集が観察された (図 3)。この凝集に関して、660 nm の吸光度を測定することにより凝集効果を定量的に評価する系を確立した。

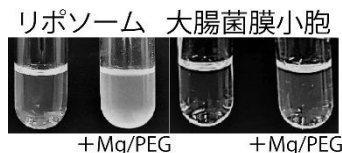


図 3 マグネシウム (Mg) やポリエチレングリコール (PEG) によるリポソームの凝集。+Mg/PEG では、5mM MgSO₂、3.2% PEG を加え、37°C で 10 分間保温した。

リポソームの機械的強度・化学物質に対する耐性度を増強させる因子 (BPF) の精製

大腸菌 IMV をコール酸ナトリウムで抽出し、リポソームに再構成すると物をリポソームに再構成すると、5mM MgSO₂、3.2% PEG を加えても凝集しないことが明らかとなった、そのため、この抽出物に生体膜に機械的強度、化学物質に対する耐性度を付与する因子 (BPF) が含まれていると考え、BPF の精製・同定を進めた。

この抽出物をアセトン沈殿し、クロロホルム - メタノール - 水 (5 : 10 : 4) に懸濁したところ、水層に BPF が回収された。水層について限外ろ過濃縮を行ったところ、分画分子量が 3 kDa の膜を用いたところ BPF は通り抜け画分に回収されたのに対し、分画分子量が 1 kDa の膜では濃縮画分に回収された。したがって、BPF の分子量は 1 kDa ~ 3 kDa であることが判明した。

この濃縮画分を、Sol C (クロロホルム - エタノール - 水 : 3/7/4) で平衡化したシリカゲルカラムで分画した。BPF を含む画分を、さらに MonoQ カラムにかけた。BPF 活性のある画分を TLC で分析したところ、主要なスポットに加え、もう一つ小さなスポットが検出された。主要なスポットを回収したところ、BPF 活性が検出された。そのため、この主要なスポットが BPF であることが示された。このスポットは Dittmer 試薬で検出されたことから、BPF はリン酸を含んでいることが明らかとなった。

精製 BPF 画分を LC/MS 分析に供したところ、主要なピークとして m/z 値が 1061 のピークが観察された。このピークを MS/MS 分析したところ、 m/z 値が 675 と 398 のピークが観察された。そのため、BPF の分子量は 1061 であり、二つのドメイン構造をもつことが示唆され、一つは膜に挿入した疎水的な領域、もう一つは膜表面の親水的な領域であることが考えられる。現在、NMR 分析により BPF の構造をより詳細に解析している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計29件（うち査読付論文 28件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 24件）

1. 著者名 Saito Hiroaki, Morishita Tetsuya, Mizukami Taku, Nishiyama Ken-ichi, Kawaguchi Kazutomo, Nagao Hidemi	4. 巻 1290
2. 論文標題 Free energy profiles of lipid translocation across pure POPC and POPC/CHOL bilayer: all-atom molecular dynamics study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012020-012020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-6596/1290/1/012020	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 -
1. 著者名 Nomura Kaoru, Yamaguchi Toshiyuki, Mori Shoko, Fujikawa Kohki, Nishiyama Ken-ichi, Shimanouchi Toshinori, Tanimoto Yasushi, Morigaki Kenichi, Shimamoto Keiko	4. 巻 117
2. 論文標題 Alteration of Membrane Physicochemical Properties by Two Factors for Membrane Protein Integration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 99 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.05.014	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 -
1. 著者名 Sawasato Katsuhiko, Sekiya Yusei, Nishiyama Ken ichi	4. 巻 593
2. 論文標題 Two step induction of cdsA promoters leads to upregulation of the glycolipid MPLase at cold temperature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1711 ~ 1723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13460	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 -
1. 著者名 Sasaki Masaru, Nishikawa Hanako, Suzuki Sonomi, Moser Michael, Huber Maria, Sawasato Katsuhiko, Matsubayashi Hideaki T., Kumazaki Kaoru, Tsukazaki Tomoya, Kuruma Yutetsu, Nureki Osamu, Ueda Takuya, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 294
2. 論文標題 The bacterial protein YidC accelerates MPLase-dependent integration of membrane proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 18898 ~ 18908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.011248	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 -

1. 著者名 Sawasato Katsuhiko, Suzuki Sonomi, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 294
2. 論文標題 Increased expression of the bacterial glycolipid MPLase is required for efficient protein translocation across membranes in cold conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 8403 ~ 8411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008457	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 -

1. 著者名 Sato Ryo, Sawasato Katsuhiko, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 510
2. 論文標題 YnbB is a CdsA paralogue dedicated to biosynthesis of glycolipid MPLase involved in membrane protein integration	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 636 ~ 642
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.01.145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sawasato Katsuhiko, Sato Ryo, Nishikawa Hanako, Imura Naoki, Kamemoto Yuki, Fujikawa Kohki, Yamaguchi Toshiyuki, Kuruma Yutetsu, Tamura Yasushi, Endo Toshiya, Ueda Takuya, Shimamoto Keiko, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 9
2. 論文標題 CdsA is involved in biosynthesis of glycolipid MPLase essential for membrane protein integration in vivo	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 No 1372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-37809-8	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 -

1. 著者名 Nakamura Shota, Suzuki Sonomi, Saito Hiroaki, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 163
2. 論文標題 Cholesterol blocks spontaneous insertion of membrane proteins into liposomes of phosphatidylcholine	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 313 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvx083	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 -

1. 著者名 Saito Hiroaki, Morishita Tetsuya, Mizukami Taku, Nishiyama Ken-ichi, Kawaguchi Kazutomo, Nagao Hidemi	4. 巻 1136
2. 論文標題 Molecular dynamics study of binary POPC bilayers: molecular condensing effects on membrane structure and dynamics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012022 ~ 012022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-6596/1136/1/012022	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 -

1. 著者名 Fujikawa Kohki, Suzuki Sonomi, Nagase Ryohei, Ikeda Shiori, Mori Shoko, Nomura Kaoru, Nishiyama Ken-ichi, Shimamoto Keiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Syntheses and Activities of the Functional Structures of a Glycolipid Essential for Membrane Protein Integration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 2719 ~ 2727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.8b00654	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 -

1. 著者名 Sawasato Katsuhiko, Suzuki Sonomi, Nishiyama Ken-ichi	4. 巻 294
2. 論文標題 Increased expression of the bacterial glycolipid MPLase is required for efficient protein translocation across membranes in cold conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008457	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 -

1. 著者名 Saito Hiroaki, Morishita Tetsuya, Mizukami Taku, Nishiyama Ken-ichi, Kawaguchi Kazutomo, Nagao	4. 巻 1290
2. 論文標題 Free energy profiles of lipid translocation across pure POPC and POPC/CHOL bilayer : all - atom molecular dynamics study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 No. 012020
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-6596/1290/1/012020	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 -

1. 著者名 Hanako Nishikawa, Masaru Sasaki, Ken-ichi Nishiyama	4. 巻 487
2. 論文標題 Membrane insertion of F0 c subunit of F0 F1 ATPase depends on glycolipozyme MPLase and is stimulated by YidC	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 477 ~ 482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.04.095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shota Nakamura, Sonomi Suzuki, Hiroaki Saito, Ken-ichi Nishiyama	4. 巻 163
2. 論文標題 Cholesterol blocks spontaneous insertion of membrane proteins into liposomes of phosphatidylcholine	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Biochem	6. 最初と最後の頁 313 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvx083	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 -

1. 著者名 Hiroaki Saito, Tetsuya Morishita, Taku Mizukami, Ken-ichi Nishiyama, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao	4. 巻 in press
2. 論文標題 Molecular dynamics study of binary POPC bilayers: molecular condensing effects on membrane structure and dynamics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Physics	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-6596/1136/1/012022	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98件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 18件)

1. 発表者名 Kotoka Kanno, Hanako Nishikawa, Katsuhiko Sawasato, Miwa Yamada, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Reconstitution of the TAT (Twin-Arginine Translocation) pathway that depends on both TatABC and glycolipid MPLase
3. 学会等名 International Symposium on "Environmental Response Mechanisms in Plants and Animals" (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuki Kamemoto, Ryo Sato, Katsuhiko Sawasato, Naoki Imura, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Bacterial CdsA and eukaryotic Cds1p are involved in biosynthesis of MPlase, a glycolipozyme essential for membrane protein integration
3. 学会等名 International Symposium on Innovative Agriculture and Fishery (ISIAF2018) (Iwate University, Morioka) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木苑実、藤川紘樹、島本啓子、池田汐里、西山 賢一
2. 発表標題 タンパク質膜挿入反応に必須の糖脂質酵素MPlaseの部分化学合成標品を用いた構造と機能の研究
3. 学会等名 日本生化学会東北支部第84回例会 (岩手医科大学薬学部、岩手県矢巾町)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Sawasato, Sonomi Suzuki, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Increase in the expression level of Glycolipozyme MPlase is required for the efficient protein translocation in the cold
3. 学会等名 Bacterial Protein Export 2018 (The Leuven Institute for Ireland, Leuven, Belgium) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hanako Nishikawa, Kotoka Kanno, Katsuhiko Sawasato, Miwa Yamada, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 MPlase, a glycolipid essential for protein integration, is involved in the TAT pathway
3. 学会等名 Bacterial Protein Export 2018 (The Leuven Institute for Ireland, Leuven, Belgium) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaru Sasaki, Hanako Nishikawa, Sonomi Suzuki, Michael Moser, Katsuhiko Sawasato, Hideaki Matsubayashi, Kaoru Kumazaki, Tomoya Tsukazaki, Yutetsu Kuruma, Maria Huber, Osamu Nureki, Takuya Ueda, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 YidC accelerates glycolipozyme MPLase-dependent integration of membrane proteins
3. 学会等名 Bacterial Protein Export 2018 (The Leuven Institute for Ireland, Leuven, Belgium) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Sawasato, Ryo Sato, Hanako Nishikawa, Naoki Imura, Yuki Kamemoto, Kohki Fujikawa, Toshiyuki Yamaguchi, Yutetsu Kuruma, Yasushi Tamura, Toshiya Endo, Takuya Ueda, Keiko Shimamoto, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Glycolipozyme MPLase is essential for membrane protein integration and facilitates protein translocation in Escherichia coli
3. 学会等名 Bacterial Protein Export 2018 (The Leuven Institute for Ireland, Leuven, Belgium) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Structure and function of MPLase involved in membrane protein integration and preprotein translocation
3. 学会等名 BMB Seminar (Freiburg University, Germany) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishikawa, H., Sasaki, M, Nishiyama, K.
2. 発表標題 Membrane insertion of F0 c subunit of F0F1 ATPase depends on glycolipozyme MPLase and is stimulated by YidC
3. 学会等名 Gordon Research Conference on Protein Transport Across Cell Membranes. (Hotel Galvez, Galveston, TX, USA) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sawasato, K., Sato, R., Nishikawa, H., Iimura, N., Kamemoto, Y., Fujikawa, K., Yamaguchi, T., Kuruma, Y., Tamura, Y., Endo, T., Ueda, T., Shimamoto, K., Nishiyama, K.
2. 発表標題 CdsA is involved in biosynthesis of MPlase essential for membrane protein integration in vivo
3. 学会等名 Gordon Research Conference on Protein Transport Across Cell Membranes. (Hotel Galvez, Galveston, TX, USA) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Katsuhiko Sawasato, Ryo Sato, Michael Moser, Yasushi Tamura, Tshiya Endo, and Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 in vivo analysis of MPlase (Membrane Protein Integrase) involved in protein integration and translocation
3. 学会等名 Conference on Protein Secretion in Bacteria, Zing Conferences (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ken-ichi Nishiyama, Michael Moser, Shoichi Kusumoto, Keiko Shimamoto
2. 発表標題 MPlase (membrane protein integrase), a glycolipozyme involved in protein integration into and protein translocation across the cytoplasmic membrane of E. coli
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Ryo Sato, Keiko Shimamoto, Toshiyuki Yamaguchi, Michael Moser, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Identification of biosynthetic enzymes for MPlase, a glycolipozyme essential for membrane protein integration
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Katsuhiko Sawasato, Michael Moser, Ryo Sato, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Glycolipozyme MPLase functions as membrane protein integrase in vivo
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Masaru Sasaki, Hideaki Matsubayashi, Yutetsu Kuruma, Takuya Ueda, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Reconstitution of glycolipozyme MPLase-dependent protein integration into membrane
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 Yuta Endo, Toshiyuki Yamaguchi, Hideaki Matsubayashi, Yutetsu Kuruma, Takuya Ueda, Keiko Shimamoto, Ken-ichi Nishiyama
2. 発表標題 Characterization of an MPLase homologue in plants that catalyses membrane protein integration
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (国際学会)
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>岩手大学農学部応用生物化学科分子生物学研究室 http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~sec/ 岩手大学農学部 応用生物化学科・分子生物学研究室 http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~sec/ Welcome to Nishiyama Lab! http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~sec/ 西山研究室 研究内容 http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~sec/research.html</p>
--

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
連携 研究者	島本 啓子 (Shimamoto Keiko) (70235638)	公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所・主幹研究員 (74408)	