【解説】

細菌のタンパク質分泌を促進する 膜タンパク質 SecDF の構造と機能

森 博幸*¹, 塚崎智也*²

細菌のタンパク質分泌には、必須の駆動モーター SecA ATPaseと、分泌タンパク質の通り道を形成する SecYEG トランスロコンが中心的な役割を果たす。これらに加え、膜タンパク質複合体 SecDF も、タンパク質の分泌能の保持に重要な役割をもつが、その作用機序は長らく不明であった。筆者らは、高度好熱菌由来の SecDF の立体構造を X 線結晶構造解析より明らかにし、立体構造情報に基づいた生化学的・生物物理学的な解析を通して、「SecDF は、細胞質膜を挟んで形成されるプロトン駆動力を用い、プロトン輸送と共役した自身の構造変化を介して、膜透過途上の基質タンパク質を自身の膜外ドメインで一時的に捕捉し、膜から引っ張り出すことにより膜透過を促進する。」との作業仮説を提唱した。トランスロコンを挟んで膜の両側に存在する 2 つの駆動因子（細菌では、SecA と SecDF）の協調的な働きにより、分泌タンパク質の膜透過が促進されるという機構は、すべての生物に観察される普遍的なメカニズムととらえることができる。

はじめに

細胞質外で働くタンパク質は、細胞質中でリボソームにより合成された後、細胞質膜を横切り、細胞内外の適切な場所に運ばれて初めて生理的機能を獲得する。タンパク質が生体膜を越える反応はすべての生物に必須の生命現象であり、その分子機構の理解は細胞生物学の重要なテーマの一つと言える。細胞質外に運ばれるタンパク質は、通常そのアミノ末端に「シグナル配列」と呼ばれる局在化を支配する延長配列を保持しており、この配列によって、細胞質膜上に存在するタンパク質膜透過装置へとターゲットされる。

細菌のタンパク質膜透過

細菌のタンパク質膜透過にかかわる主要因子を図 1a にまとめた。このうち、分泌タンパク質の通り道を形成する「SecYEG トランスロコン」と、駆動因子「SecA ATPase」が中心的な役割を果たす。これら必須因子に加え、膜内在性タンパク質複合体「SecDF」も、*in vivo* でのタンパク質分泌能の保持に重要な役割をもつことが

Structure and Function of a Membrane Component SecDF That Enhances Protein Export
Hiroyuki MORI, Tomoya TSUKAZAKI, *¹ 京都大学ウイルス研究所, *² 東京大学大学院理学系研究科・科学技術振興機構さきがけ

図1 ■ a. 細菌のタンパク質膜透過装置の模式図, b. トランスロコンの構造模式図, c. SecAによるタンパク質膜透過駆動の作業仮説

c. SecA-SecYEG複合体の立体構造 [PDB ID:3DIN] より提案されたSecAによる膜透過駆動モデル。トランスロコンの各サブユニットSecY (N末側: 赤, C末側: 青), SecE (ピンク色), SecG (灰色)を円柱表示した。SecA分子は、リボン表示し、ドメインごとに色分けした (詳細は省略)。タンパク質の押し込みに直接働くと考えられるTHF (Two helix finger)を、強調のため円柱表示 (緑色)し、予想される反復運動を矢印表示した。輸送されるタンパク質の透過経路を点線で表示した。

古くから知られていたが、その役割の詳細は長らく不明であった。以下に各因子に関して簡単に述べる。

1. トランスロコンの構成因子とその高次構造

トランスロコンは、進化的に保存された3種類の膜内性タンパク質SecY/SecE/SecGよりなる。SecYは10回の膜貫通領域 (transmembrane region; TM) をもつ中心因子であり生育に必須である。SecEも生育に必須であり、主にSecYの安定化に寄与している。SecGは、*in vitro*実験系により見いだされた唯一のSec因子であり、生育には必須ではないものの、低温下でのタンパク質膜透過能の保持に貢献している。トランスロコンは、生体膜がもつ「透過障壁」としての機能を保ちつつ、巨大な分泌タンパク質分子を選択的・特異的に輸送する「ゲート機構」をもつと考えられるが、その作用機序は長らく謎に包まれていた。2004年に、古細菌由来のトランスロコンの高分解能の立体構造が報告され、タンパク質膜透過駆動の分子レベルでの理解が大きく進んだ⁽¹⁾

(図1b)。トランスロコンの大部分は、SecYにより構成されている。分子の内側は砂時計様の形をしており、チャンネルの中央部は細くくびれている (ポアリング)。また、非細胞質側より、「プラグ」と呼ばれる短い α ヘリックスが、チャンネルの孔を塞いでいる。よって、解かれた構造は静止した状態と解釈された。分泌タンパク質が輸送されている際には、プラグヘリックスはポアリングからはずれ、この位置に細い孔が貫通する。基質タンパク質分子は、伸びたひも様の状態でこの孔を通過すると考えられている。ポアリングが、ガasketのように機能し、タンパク質の輸送時にイオンの漏れを最小限に抑えることが可能となると考えられる⁽²⁾。トランスロコンの外表面は、SecYのN末側、C末側の各5本のTMで構成される2枚貝様の形をしており、SecE分子内の機能に必須な1本の膜貫通領域が、SecYの2枚の貝を背面からつなぎ止めることによりSecYを安定化させている。結果的に、脂質面に向けて一方向だけ開くことができる構造をもつ。トランスロコンは、分泌タンパク質の

膜透過に加えて、膜タンパク質の脂質二重層への組み込み反応にも関与していることが知られており、この脂質への開放面が、膜タンパク質の膜貫通領域の脂質面への移行にかかわる「ラテラルゲート」として機能していると考えられる。2012年までに、筆者らの高度好熱菌由来のSecY/Eを含め⁽³⁾ 4種類のトランスロコンの立体構造が報告されているが、すべて上で述べたような構造的特徴を保持している。上記モデルの妥当性は、種々の生化学的実験からも強く支持されている。

2. SecA ATPaseの構造と膜透過駆動機構

トランスロコンはpassiveなチャネルであり、タンパク質の膜を越えた輸送には駆動モーターが必要となる。細菌では、SecA ATPaseが、必須の駆動因子として働く。最近のSecAとトランスロコン複合体の共結晶構造とそれに基づいた生化学的解析結果から、SecAによるタンパク質輸送駆動の新たなモデルが提唱された⁽⁴⁾ (図1c)。すなわち、SecA分子内に存在する特徴的な構造体THF (two helix finger) は、トランスロコンのポアリングの直下に位置しており、SecAへのATPの結合・加水分解に伴い、トランスロコンに対して上下動すると考えられる。THFの先端には高度に保存された機能発現に必須の芳香族アミノ酸残基が存在しており、これは、膜透過途上の基質タンパク質分子と一時的に相互作用する能力をもつ。ATP加水分解と共役したTHFの上下動と、芳香族アミノ酸残基と基質との結合・解離が連動することにより、基質タンパク質は段階的にチャネルのなかに押し込まれると考えられる。種々の生化学的実験結果は、このモデルを支持しており、極めて有力な作業仮説となっている。

3. タンパク質膜透過補助因子SecDF

SecDFはタンパク質分泌にかかわる因子として遺伝学的解析により1980年後半に見いだされた⁽⁵⁾。発現制御株を用いた解析などから、SecDFの細胞内蓄積量の減少により、*in vivo* (とりわけ低温)において、厳しい分泌欠損が生じることが報告され、この複合体がタンパク質の分泌能の保持に寄与することが示された⁽⁶⁾。アミノ酸配列の相同性から、SecDFは多剤排出ポンプAcrBが属するRND super familyに分類される⁽⁷⁾。大腸菌においては、SecD、SecFは同一オペロンから別々のポリペプチド鎖として合成され、各々6つのTMと第一ペリプラズム領域 (非細胞質領域) に巨大な膜外ドメイン構造をもつ。これらペリプラズム領域の欠失により、機能が失われることから、SecDFは分泌反応の後期の

過程で役割をもつと考えられている⁽⁸⁾。大腸菌スフェロプラスト (外膜構造を破壊し、細胞膜外表面への外来分子の相互作用が可能となった菌) をSecD抗体で処理すると、分泌タンパク質の細胞質膜からのリリースが特異的に阻害されることから、SecDは膜透過されたタンパク質の細胞質膜からの遊離過程において機能をもつことが示唆された⁽⁹⁾。一方、反転膜小胞 (inverted membrane vesicle; IMV) や精製因子を再構成したproteoliposomeを用いた*in vitro*解析においては、SecDFの存在あるいは添加に伴うタンパク質膜透過活性の昂進は観察されておらず⁽¹⁰⁾、その役割は不明な点が多く残されていた。

*in vitro*膜透過実験系による、SecDF機能解析

前述のようにATPはタンパク質膜透過の必須のエネルギー源である。これに加えて、細胞質膜を挟んで形成されるプロトン駆動力 (Proton motive force; PMF) も膜透過を昂進することが知られている⁽¹¹⁾。しかしながら、「PMFのターゲット因子が何であるのか?」「PMFはどのような機構で膜透過を昂進しているのか?」についてはよくわかっていなかった。

上で述べたように、IMVを用いた通常の*in vitro*膜透過アッセイ系では、SecDFの機能を評価することは難しい。これは、1) SecA ATPaseの働きにより、SecDFの効果がマスクされてしまう。2) 小胞の外側から内側へのタンパク質移行を測定する*in vitro*膜透過実験系は、膜透過の後期に働くと考えられるSecDFの機能解析にあまり適していない。などの理由が考えられる。そこで、SecAの機能に依存せず、膜透過反応の後期ステップのみをアッセイできる実験系を構築し、SecDFの役割を検討した (図2)。分泌タンパク質は、トランスロコンの狭い孔を通過できるように、ひも状に伸びた状態で膜透過する。それゆえ、分子内にジスルフィド結

図2 ■ ATPに依存しない膜透過完了ステップの*in vitro*実験系

合ループ構造をもつタンパク質分子を基質として用いた場合、ループ構造が立体障害として働き、膜透過がこの位置で停止した中間体を形成する (図2a)。この状態で、反応液中のATPを枯渇させた後に、還元剤 (DTT) の添加によりジスルフィド結合を切断すると、ATPには依存しない膜透過の後期・完了ステップをモニターできる (図2b)。野生株より調製したIMVを用いた場合には、PMFの形成に依存して中間体から完全長の基質タンパク質の膜透過が確認できるが、SecDFが細胞内でほとんど蓄積していない変異株 (*secD1* 株) より調製したIMVを用いた際には、PMFが存在していても、膜透過は完了せず、中間体は減少する。これらの結果は、SecDFは、SecAの機能とは独立に、PMFのエネルギーを用いて膜透過の継続・完了を駆動できる分子モーターであることを示している。

SecDFの立体構造

筆者らは2000年初頭より、高度好熱菌由来のSec因子の精製系を構築し、*in vitro*再構成系を用いた生化学的解析を進めるとともに⁽¹²⁾、これらの立体構造解析を進めてきた。これまでに SecA ATPase⁽¹³⁾、SecYE複合体⁽³⁾、SecDF⁽¹⁴⁾ など、タンパク質膜透過装置の主要な因子の構造決定に成功し、立体構造に基づいた生化学的解析を進めている。

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の SecDF (T. SecDF) を、大腸菌中で発現、精製し、蒸気拡散法により結晶化した⁽¹⁵⁾。放射光 Spring 8 ビームライン41を用いて、3.3 Å分解能のデータセットを得た。位相はSe-Met導入体を用いたMAD法により決定し、最終分解能3.3 Åで、構造を決定した (図3a)。

T. SecDFは大腸菌と異なり1本のポリペプチド鎖として合成され12本のTMをもつ。アミノ酸配列から予想されたように、SecDFは、SecD、SecF領域に各6本のTM領域 (TM1-6、TM7-12) と大きなペリプラズ領域 (P1、P4ドメイン) を有していた。SecD、SecFの膜貫通領域内は、疑似2回対称となっており、TM4とTM10がSecDとSecFの相互作用面を形成している。TM2とTM8を形成する α ヘリックスは、膜からペリプラズ領域に約10 Å程度飛び出しており、各々 P1、P4ドメインと連結している (図3a)。

構造の詳細を理解するため、可溶性ドメインである T. SecD のP1ドメインだけを切り出した形で、精製・結晶化し、ドメイン構造を分解能2.6 Åで決定した⁽¹⁶⁾ (図3b)。P1ドメインは、ヘッド、ベースと名づけた2つのサブドメイン構造からなり、2本のヒンジループにより連結されている。ベースドメインは、フェレドキシン・フォールド様の構造をもち、P4ドメインとはほぼ同じ形をしている (図3a)。これらは、TM領域をペリプラズム側から覆い隠すように位置している。ヘッドドメ

図3 ■ a. 高度好熱菌 SecDF (T. SecDF) の立体構造のステレオ図, b. 単離P1ドメインの立体構造, c. SecDFのF型とI型, d. SecD P1ドメインの可塑性と分泌能の関係

a: SecD、SecFの膜貫通領域は各々赤、青で、P1 base, head, P4ドメインは、黄色、オレンジ、水色で表記した。推定される膜の位置も記した。[PDB ID: 3ACR] b: 各ドメインの色はaと同じ。[PDB ID: 3ACQ] c: 完全長の立体構造をF型、単離したP1ドメインの構造をI型と名づけた。2つの構造状態で、P1 headの配向が大きく異なっていることがわかる。図中の円弧は、P1 headの外表面の疎水性クレバスの位置を示す。d: ジスルフィド (S-S) 結合によりP1ドメインをF型もしくはI型で固定したSecDF変異体と、還元剤 (DTT) 処理によりS-S結合を切断したSecDF変異体のMBP (マルトース結合タンパク質) の分泌能を測定した。

インは、ユニークな形をしており、ドメインの先端には、凹みが存在している（図3c円弧）。単離したP1の各サブドメインの構造は、完全長の場合の各々の構造と類似していたが、サブドメインの位置関係は、両者で大きく異なっていた。単離P1ドメイン構造中では、ヘッドドメインが、ヒンジ領域を中心として120°回転し、立ち上がった構造をしている。単離P1ドメインのベースドメインを全長構造のベースドメインと重ね合わせた構造モデルを作製した。以下、このモデル構造をI型、完全長のSecDF構造をF型と呼ぶ（図3c）。

立体構造に基づいた生化学的解析

1. P1ドメインの構造変化は膜透過促進に重要である

SecDFが、I型、F型の2つの構造状態を実際の細胞内で形成しているかどうかを、分子内ジスルフィド（S-S）結合形成能を指標に評価した。SecDが、I型もしくはF型の構造を形成した際に、ヘッドとベースサブドメイン間でジスルフィド結合を形成可能な位置にシステイン残基を2つ導入した大腸菌SecD変異体を作製した。これら大腸菌中で発現させたところ、どちらの組み合わせにおいても、ほぼ定量的にS-S結合が形成された（データは省略）。生きた細胞において、SecD P1ドメインはI型、F型の両方の構造状態を取りうる事が明らかとなった。

次に、S-S結合形成によりP1ドメインの動きが制限されたSecDF変異体を発現する*secDI*大腸菌変異株のタンパク質分泌能を測定した（図3d）。P1ドメインがF型、もしくはI型に固定されたSecDF変異体の輸送活性は、ベクターをもつ株と同程度に低い、分泌測定前に還元剤によりジスルフィド結合を開裂した場合には、野生型SecDFに匹敵する輸送活性を有していた。この結果は、P1ドメインの構造変化がタンパク質膜透過能の発揮に重要であることを示している。

2. P1ドメインは膜透過途上の基質タンパク質分子と相互作用する

生化学的解析から、単離したP1ドメインが、変性タンパク質と相互作用する能力をもつことを確認した。また、この結合の強さは、単離P1ドメインの構造状態により、変化することも見いだした。SecD P1ドメインは、膜透過途上の基質分泌タンパク質と一時的に結合・解離していると考えられることができる。実際、膜透過途上の基質タンパク質が、P1ヘッドサブドメイン外表面に存在する疎水性の凹み（図3c参照）と近接しているこ

とを架橋実験により見いだしており（森ら未発表結果）、このクレバスが基質タンパク質の結合部位として機能している可能性が示唆される。

以上の結果から、SecD分子内のP1ドメインは、F型、I型の2つのコンフォメーション状態を行き来することで、トランスロコンから出てきた膜透過途上鎖と一時的に相互作用し、膜透過の一方方向性を保証していると考えられる。それでは、このような構造変化は、何によって駆動されているのだろうか？

3. SecDFの膜貫通領域の配置は、AcrBと類似している

ペリプラズム領域の構造は全く異なっているにもかかわらず、SecDFの膜貫通領域の配置は、同じRND superfamilyに属するAcrBのそれと類似している⁽¹⁷⁾。AcrBは、PMFのエネルギーを利用して、プロトンの細胞内への流入と共役する形で種々の薬剤を細胞外に排出するポンプとして機能する。AcrBにおいては、すでにプロトンの移動に必須の複数の電荷アミノ酸残基がTM4、TM10内に同定されている⁽¹⁸⁾。SecDFにおいても、これら電荷アミノ酸残基のいくつかは高度に保存されている（図4a）。変異解析の結果から、これらのアミノ酸残基は、SecDFの活性に必須である（図4bは、V. SecDF1（後述）を用いた解析結果を示す。大腸菌SecDFを用いた解析でも同様の結果が得られている）とともに、上述のPMFに依存した膜透過の継続・完了にも必須である（データは省略）。よって、SecDFは、PMFを利用したプロトンの流入により生じるTM内の構造変化をTM2のリンカー配列を介してP1ドメインに伝え、さらなる構造変化を引き起こしていると考えられる。

4. SecDFは一価カチオントランスポーター活性をもつ

筆者らは、ビブリオ属がもつSecDFパラログ（V. SecDF1）に着目し、これらの解析を進めた。その結果、V. SecDF1はプロトンの代わりにナトリウム濃度勾配を利用してタンパク質分泌を促進していることを見いだした（図4b）。この結果は、SecDFがカチオン濃度勾配を用いた駆動モーターであることを示す生理的証拠といえる。

さらに、T. SecDFを過剰発現した大腸菌より調製したジャイアントスフェロプラストを用いたパッチクランプ実験を行い、イオン透過能を直接測定した（図4c）。野生型T. SecDF過剰発現菌を用いたとき、膜内外のpH

図4 ■ a. TSecDFのTM内に保存された電荷アミノ酸残基の位置, b. Na⁺駆動型SecDF, c. パッチクランプ解析

a: 各ドメインの色は図3aと同じ。T. SecDFのTM内に保存された活性に必要な電荷アミノ酸残基を、緑色の空間充填モデルで残基番号とともに記した。ビブリオ菌SecDF1 (V. SecDF1) 中のアミノ酸残基番号も併記した。b: 図中で記した各種SecDFを発現する大腸菌のMBP分泌能を測定した。Na⁺を含む培地(青)、含まない培地(赤)を用いて測定した結果を示した。野生型V. SecDF1を発現する大腸菌 *secD1* 株では、Na⁺を含む培地中においてのみ、高い分泌能を示す。大腸菌SecDF発現株では、こうしたNa⁺依存性は観察されない。図4aで示した保存電荷アミノ酸残基を改変した変異型V. SecDF1の機能は完全に損なわれる。c: 左、実験の模式図。TSecDFを過剰発現する大腸菌株から巨大スフェロプラストを調製し、パッチクランプ法により電流を測定した。T. SecDFを発現していない株をコントロールに用いた。右、実験結果の一例。T. SecDF発現膜においてのみ、細胞質膜間のpHの勾配と変性タンパク質の存在に依存して、電流が流れる頻度が大きく増加する。

濃度勾配(細胞外のpHが低い)と細胞外の変性タンパク質の存在により、電流発生頻度の上昇が観察された。活性に必要な膜貫通領域内のアミノ酸残基(T. SecDFのAsp340, Asp637, Arg671残基, 図4a)を置換した変異体を用いた場合には一例を除き電流は観察されなかった(データは省略)。これらの結果は、一価陽イオン透過活性とSecDFの分泌能促進機能の間には密接な関係があることを示唆している。

SecDFによる膜透過促進の作業仮説

上で述べたSecDFの構造解析と機能解析の結果を基に、筆者らは以下の作業仮説を提案している(図5)。SecDFはトランスロコンSecYEGと相互作用している⁽¹⁹⁾。F型の構造状態にあるP1ドメインは、トランスロコンのペリプラズム側の出口の近傍に配置していると考えられる。SecAのATP加水分解と共役した構造変化により順次押し込まれた基質タンパク質分子は、トラン

スロコンを通過し、ペリプラズム側へ顔をのぞかせる。この基質分子は、SecD P1ドメインに捕捉され、P1ドメインのF型からI型への構造変化により、引っ張り出され膜透過は進行する。I型への移行に伴い基質タンパク質とP1ドメインの親和性は低下し、基質分子はSecDから手放されるとともに、プロトンの流入と共役したTM内の構造変化に伴うP1ドメインの構造変化により再びF型に戻ると考えられる。こうしたサイクルを繰り返すことにより、SecDFは、タンパク質の分泌を昂進すると考えられる。

トランスロコンの両側に位置する2つのモータータンパク質による膜透過駆動の様式は進化的に保存されている

細菌においては、すでに述べたように、細胞質側からSecA ATPaseが、基質タンパク質を押し込むモーターとして、非細胞質側からSecDFが、基質タンパク質を引っ張るモーターとして機能することにより、効率的な

図5 ■ SecDF による膜透過昂進の作業仮説

a. F型（基質タンパク質と結合）、b. F型からI型への構造変化（基質タンパク質の引っ張り）、c. I型（基質タンパク質のリリース）、cからa: 一価カチオン流入によるI型からF型への構造変化。

表1 ■ タンパク質膜透過を媒介するモータータンパク質

局在	駆動様式	細菌	酵母	哺乳動物
細胞質	押し込み	SecA (ATP)	リボソーム (GTP)	リボソーム (GTP)
非細胞質	引っ張り	SecDF (PMF)	Bip (ATP)	Bip (?) (ATP ?)

膜透過を達成していると考えられる（表1）。細菌のペリプラズム中には、ATPのような高エネルギー化合物は存在しておらず、駆動エネルギーとして膜を挟んで形成されるPMFを利用するように進化してきたのだろう。

酵母においては、タンパク質の膜透過は、リボソームによるタンパク質の合成と共役して起こる場合と、翻訳が完了してから起こる場合が知られている⁽²⁰⁾。前者の場合、GTP加水分解エネルギーを用いたペプチド鎖の伸長により、細胞質から小胞体内腔への一方向の移動が可能になる。後者の場合には、小胞体の内腔にBipと呼ばれるATPaseが存在し、この分子が膜透過途上の基質タンパク質分子と順次相互作用し、ラチェットとして働くことで、タンパク質膜透過を進行させる⁽²¹⁾。Bipが、翻訳と共役したタンパク質の膜透過反応にもかかわることを示す報告もある⁽²²⁾。哺乳動物細胞においては、タンパク質の膜透過は翻訳と共役した系で主に進行する。この系において、Bipが小胞体内腔側からタンパク質を引っ張っていることを示す直接的な証拠は今のところ得られてはいないが、Bipと特異的に相互作用するトランスロコン関連因子がリボソーム結合部位として機能するとの報告もあり⁽²³⁾、酵母と同様の引っ張り機構をもつ可能性は決して低くない。

輸送に用いるエネルギーや駆動因子は種間で異なっているものの、概念的には、すべての生物において、トラ

ンスロコンの両側に2つの駆動因子が存在しており、細胞質側からタンパク質を押し込み、非細胞質側からタンパク質を引っ張るという共通の役割を發揮しているように見える。これら2つの駆動モーターの協調的な作業により、効率的な膜透過が可能となっていると考えられる。膜を挟んでトランスロコンの両側に存在する2つの駆動因子を介した膜透過駆動の機構は、進化的に保存された普遍的な原理と解釈することも可能であろう。

今後の課題

筆者らの研究により、SecDFによる膜透過駆動のメカニズムに関して一つの作業仮説を提案することができた。今後は、このモデルの妥当性を検証していく必要がある。以下に検討すべき課題について簡単に列挙する。

1) SecDFとトランスロコンの相互作用部位の同定

SecDFとSecYEG間の相互作用部位に関する詳細な解析はこれまでなされていない。部位特異的*in vivo*光架橋実験等の手法を用いて、両者の相互作用面をアミノ酸残基レベルの空間分解能で明らかにする必要がある。

2) プロトンの流入に伴うSecDFの構造変化の分子基盤の解明

「P1ドメインの構造変化が、プロトンの流入と共役したTM内の構造変化に起因している」との仮説を提唱しているが、その実体は不明なままである。P1ドメインをI型で固定したT. SecDF変異体の構造解析を進め、I型構造状態におけるTM内の構造を決定し、構造変化の構造基盤を明らかにする。

3) SecYEG-SecDF複合体の構造解析

SecDF機能のより詳細な理解のためには、トランスロコンとSecDF複合体の構造解析は避けて通れない重要な研究課題である。両者の相互作用面が同定できた後

には、ジスルフィド結合形成などにより安定な複合体を調製し、構造解析につなげていきたい。

謝辞：本研究は、東京大学大学院理学系研究科・濡木 理先生、京都産業大学総合生命科学部・伊藤維昭先生のご指導のもと行われました。電気生理学的解析は、長岡技術科学大学のアンドレアス・マツラナ博士によりなされました。個人の名前を挙げることはできませんが、本研究の遂行に当たっては、たいへん多くの方にお世話になりました。この場を借りて篤く御礼申し上げます。

文献

- 1) B. van den Berg, W. M. Clemons *et al.* : *Nature*, **427**, 36 (2004).
- 2) E. Park & T. A. Rapoport : *Nature*, **473**, 239 (2011).
- 3) T. Tsukazaki, H. Mori *et al.* : *Nature*, **455**, 988 (2008).
- 4) J. Zimmer, Y. Nam & T. A. Rapoport : *Nature*, **455**, 936 (2008).
- 5) C. Gardel *et al.* : *J. Bacteriol.*, **169**, 1286 (1987).
- 6) J. A. Pogliano & J. Beckwith : *EMBO J.*, **1**, 554 (1994).
- 7) T. T. Tseng *et al.* : *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **1**, 107 (1999).
- 8) N. Nouwen *et al.* : *J. Bacteriol.*, **187**, 6852 (2005).
- 9) S. Matsuyama, Y. Fujita & S. Mizushima : *EMBO J.*, **12**, 265 (1993).
- 10) S. Matsuyama *et al.* : *Biochim. Biophys. Acta*, **1122**, 77 (1992).
- 11) A. J. Driessen & W. Wickner : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 2471 (1991).
- 12) H. Mori, T. Tsukazaki *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **278**, 14257 (2003).
- 13) D. G. Vassilyev *et al.* : *J. Mol. Biol.*, **364**, 248 (2006).
- 14) T. Tsukazaki, H. Mori *et al.* : *Nature*, **474**, 235 (2011).
- 15) T. Tsukazaki *et al.* : *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, **62**, 376 (2006).

- 16) Y. Echizen, T. Tsukazaki *et al.* : *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.*, **67**, 1367 (2011).
- 17) S. Murakami *et al.* : *Nature*, **443**, 173 (2006).
- 18) M. A. Seeger *et al.* : *Biochemistry*, **15**, 1663 (2007).
- 19) F. Duong & W. Wickner : *EMBO J.*, **16**, 2756 (1997).
- 20) T. A. Rapoport : *Nature*, **450**, 663 (2007).
- 21) K. E. Matlack *et al.* : *Cell*, **97**, 553 (1999).
- 22) A. J. Jermy *et al.* : *J. Biol. Chem.*, **281**, 7899 (2006).
- 23) L. Muller *et al.* : *Mol. Biol. Cell*, **21**, 691 (2010).

プロフィール

森 博幸 (Hiroyuki MORI)

＜略歴＞1992年大阪大学大学院理学研究科生物化学専攻後期過程中途退学／同年大阪大学産業科学研究所教務職員／1993年東京薬科大学生命科学部助手／1996年京都大学ウイルス研究所助手／2007年同助教／同年同准教授，現在に至る＜研究テーマと抱負＞タンパク質の膜透過機構の解明，派手さはなくとも説得力のある研究をしたいと考えています＜趣味＞読書

塚崎 智也 (Tomoya TSUKAZAKI)

＜略歴＞2006年京都大学大学院理学研究科化学専攻博士後期課程修了／同年東京工業大学大学院生命理工学研究科博士研究員／2008年東京大学医科学研究所助教を経て，2010年東京大学大学院理学系研究科助教，2012年より科学技術振興機構さきがけ研究者（兼任），現在に至る＜研究テーマと抱負＞Secトランスロコン複合体の構造生命科学＜趣味＞実験