

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

| | | | | | |
|---|---------|--|-----------|---------|---------------|
| 研究テーマ (和文) AB | | 小胞体トランスロコンを介した膜タンパク質組み込み機構の解明 | | | |
| 研究テーマ (欧文) AZ | | Mechanism of Membrane Protein Integration via Endoplasmic Reticulum Translocon | | | |
| 研究氏 代表名 者 | カカナ CC | 姓) キダ | 名) ユウイチロウ | 研究期間 B | 2008 ~ 2010 年 |
| | 漢字 CB | 木田 | 祐一郎 | 報告年度 YR | 2010 年 |
| | ローマ字 CZ | Kida | Yuichiro | 研究機関名 | 兵庫県立大学 |
| 研究代表者 CD 所属機関・職名 | | 兵庫県立大学大学院生命理学研究科・助教 | | | |
| <p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>小胞体における膜タンパク質の脂質膜への組み込みにおいて、タンパク質膜透過チャネル(トランスロコン)はオルガネラ内腔側領域の膜透過に加え、膜貫通配列自体の脂質環境への放出にも機能する。本研究では、トランスロコンを介した膜貫通配列の組み込み挙動について研究を行い、以下の成果を得た。</p> <p>●I 型シグナルアンカー (SA-I) 型の膜貫通配列は、アミノ末端側を小胞体内腔へと透過させて貫通状態となる。このアミノ末端側ドメインにストレプトアビジン (SAv) と結合するタグ配列 (SBP タグ) を融合すると、細胞質側に添加した SAv の濃度依存的に膜透過を阻止できる。SA-I 配列への変異導入、及び SA-I 配列と SBP タグとの距離を広げることで、膜透過の SAv 感受性が増加、すなわち SBP タグにかかる透過駆動作用が著しく減少した。この結果は、SA-I 配列がその上流領域の膜透過に直接関与する可能性を示している。(Kida et al, JBC, 284, 2861-2866, 2009)</p> <p>●上記の膜透過停止状態は、ビオチン添加により SBP タグから SAv を遊離させることで解除できる。SA-I 配列内に導入した Cys 残基への親水環境依存的な化学修飾を利用することで、膜透過停止状態では SA-I 配列は親水環境に留まり、アミノ末端側の透過再開とともに膜内疎水環境へと移行することを見出した。SA-I 配列の膜組み込みが、上流領域の膜透過の膜透過と密接にカップルして起こることが示された。また、同じ膜透過阻止系を利用して、1 分子中の 2 本の膜貫通配列各々の内腔側ドメインを同時に膜透過途中で停止させた複雑な膜組み込み中間体を形成することができる。透過途中のドメインはどちらもトランスロコンの近傍に位置し、かつ親水環境に存在することが示され、トランスロコンが少なくともポリペプチド鎖 2 本分の親水環境を提供できることが分かった。(Kida et al, MBC, 21, 418-429, 2010)</p> <p>●リボソームの翻訳に共役したタンパク質膜透過の途中で疎水性の高い配列が現れると、トランスロコンで停止して脂質環境へと放出される。比較的疎水性の低い配列であっても、下流に正荷電残基を配置することで膜透過停止するが、この弱疎水性配列は一旦小胞体内腔へと透過し正荷電残基によってトランスロコン付近へと引き戻されること、また引き戻された弱疎水性配列は脂質環境には移行できずにトランスロコン付近に留まることが明らかとなった。この結果は、トランスロコンにおける膜貫通配列認識・組み込みダイナミクスの一端を示している。(Fujita et al, MBC, 21, 2045-2056, 2010)</p> | | | | | |
| キーワード FA | トランスロコン | 膜タンパク質 | シグナル配列 | 小胞体膜透過 | |

(以下は記入しないでください。)

| | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA | | | | | 研究課題番号 AA | | | | | | | | |
| 研究機関番号 AC | | | | | シート番号 | | | | | | | | |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|--|-------------------|-------------------------------------|---|---|---|--------------------|---------|
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Positive charges of translocating polypeptide chain retrieve an upstream marginal hydrophobic segment from ER lumen to translocon. | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | H. Fujita et al. | 雑誌名 ^{GC} | Molecular Biology of the Cell | | | | | |
| | ページ ^{GF} | 2045~2056 | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 1 | 0 | 巻号 ^{GD} | 21 (3) |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Environmental transition of signal-anchor sequences during membrane insertion via the endoplasmic reticulum translocon. | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Y. Kida et al. | 雑誌名 ^{GC} | Molecular Biology of the Cell | | | | | |
| | ページ ^{GF} | 418~429 | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 1 | 0 | 巻号 ^{GD} | 21 (12) |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Signal-anchor sequence provides motive force for polypeptide-chain translocation through the ER membrane. | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Y. Kida et al. | 雑誌名 ^{GC} | The Journal of Biological Chemistry | | | | | |
| | ページ ^{GF} | 2861~2866 | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 0 | 9 | 巻号 ^{GD} | 284 (5) |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | |

欧文概要 EZ

1. Type I signal-anchor (SA-I) sequence is one type of transmembrane (TM) sequence which translocates its N-terminal domain (N-domain) across the endoplasmic reticulum (ER) membrane via a protein-conducting channel named translocon. By fusing a streptavidin-binding peptide tag (SBP-tag) to the N-domain of an SA-I sequence, N-domain translocation can be arrested with streptavidin in its dose-dependent manner. Translocation of SBP-tag or Ig-like domain of titin protein fused to the N-domain was strongly influenced by mutation in the SA-I sequence and distance between the SA-I sequence and them. It is thus suggested that the SA-I sequence itself plays a critical role in generation of motive force for N-domain translocation. (Kida et al., JBC 2009)

2. In integration of TM sequences into the ER membrane, they are laterally partitioned from the translocon to lipid environment with translocation of their luminal ends across the membrane. We assessed environments of polypeptide chains in intermediate states of membrane translocation and integration by site-directed Cys alkylation and chemical cross-linking methods. Our data indicate that migration of the SA-I sequence into lipid environment synchronizes with formation of its TM orientation. Furthermore, it is suggested that the ER translocon can provide the aqueous pathway capable of two hydrophilic chains. (Kida et al., MBoC 2010)

3. In insertion of stop-transfer TM sequences, stop-translocation of hydrophobic segments is enhanced by their downstream flanking positively charged residues. In our data, positive charges facilitated membrane spanning of a marginally hydrophobic segment even when separated by 70 residues from the segment. The data also suggested that the segment was tentatively exposed to the lumen and then slid back into the membrane. Positive charges not only fix the hydrophobic segment in the membrane at its flanking position, but also exert a much more dynamic action. (Fujita et al., MBoC 2010)