

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		超高速膜融合反応における膜融合装置 SNARE タンパク質の品質管理システム			
研究テーマ (欧文) AZ		Quality control system of vesicle fusion machinery, SNARE proteins, in the high speed membrane fusion reaction			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	サキサカ	トシアキ	研究期間 B	2013 ~ 2014年
	漢字 CB	匂坂	敏朗	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Sakisaka	Toshiaki	研究機関名	神戸大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		神戸大学大学院医学研究科・教授			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめて下さい。) 神経伝達物質の過剰放出や不足は、てんかん、統合失調症、うつ等の様々な神経疾患を引き起こす。神経伝達物質の放出量は、シナプス小胞がシナプス前膜への融合効率により規定されている。本研究では、シナプス小胞の膜融合反応を、人工の脂質二重平面膜を用いて再構成し、膜上での小胞融合に必須なSNARE系タンパク質の品質管理という観点から物質的に膜融合反応をとらえなおすことを目的とした。そこで、SNARE系タンパク質の量調節を担う分子メカニズムを解析し、以下の結果を得た。 1) 新生されたSNARE系タンパク質を小胞体に輸送するATPase TRC40に結合するタンパク質として小胞体膜タンパク質TMCC2を同定した。 2) TMCC2は塩基性アミノ酸クラスター領域を介してTRC40に結合した。 3) HeLa細胞にTMCC2の細胞質内領域を過剰発現すると、小胞体膜へのSNARE系タンパク質の膜挿入が抑制された。 4) TMCC2を恒常的に発現するHEK293細胞、TMCC2-HEK293細胞、を作成した。 5) TMCC2-HEK293細胞では、小胞体膜へのSNARE系タンパク質の膜挿入がコントロール細胞に比べて増加した。 これらのことから、TMCC2がシナプス小胞とシナプス前膜にあるSNARE系タンパク質の量調節を担う分子であることが考えられた。今後は、得られた知見をもとに、人工膜を用いてシナプス小胞とシナプス前膜の超高速膜融合を再構成し、神経伝達物質放出の素過程の解明とその制御法の開発を行う。					
キーワード FA	SNARE	小胞体	膜挿入		

(以下は記入しないで下さい。)

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下さい。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	The emerging role of calcium-modulating cyclophilin ligand in posttranslational insertion of tail-anchored proteins into the endoplasmic reticulum membrane.								
	著者名 ^{GA}	Yamamoto, Y., and Sakisaka, T.	雑誌名 ^{GC}	Journal of Biochemistry						
	ページ ^{GF}	419~429	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	157 巻 6 号	
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
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}

Excess or insufficient release of neurotransmitter induces various mental and neurological disorders including epilepsy, schizophrenia, depression, *etc.* The amount of neurotransmitter release is determined by the synaptic vesicle fusion efficiency. We aimed to reconstitute synaptic vesicle fusion using synthetic planar lipid bilayers and understand the molecular mechanisms of synaptic vesicle fusion. Here we examined the molecular mechanisms how the amount of SNARE proteins, essential proteins in the synaptic vesicle fusion, was regulated and obtained the results below.

- 1) We identified TMCC2 as an ER membrane protein bound to TRC40, a cytosolic ATPase essential in transport of newly synthesized SNARE proteins to ER membrane.
- 2) TMCC2 bound to TRC40 through the cluster of positively charged amino acid residues of TMCC2.
- 3) Overexpression of the cytoplasmic domain of TMCC2 reduced the amount of SNARE proteins insertion into ER membrane in HeLa cells.
- 4) A HEK293 cell line stably expressing TMCC2, TMCC2-HEK293 cell, was established.
- 5) SNARE proteins were inserted into ER membrane in TMCC2-HEK293 cells more potently than that in parental HEK293 cells.

These results suggest that TMCC2 has a potency to regulate the amount of SNARE proteins on the synaptic vesicles and presynaptic plasma membrane. Using TMCC2 protein as a molecular tool, we will reconstitute super high-speed synaptic vesicle fusion event, understand the fusion processes in detail, and develop fusion control molecular devices.