

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： タンパク質トランスロケータの作動原理の解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

遠藤 斗志也 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)

主たる共同研究者

坂口 雅郎 (兵庫県立大学大学院生命理学研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

3 - 1. 研究課題全体の研究内容

細胞内で遺伝情報に基づいて翻訳されたポリペプチド鎖がタンパク質として機能を発現するためには、働くべき場所に正しく移動し、膜タンパク質の場合は正しい配向性で膜に組み込まれねばならない。こうしたタンパク質の交通、生体膜を舞台とするタンパク質の配置において中心的役割を担うのがトランスロケータである。ミトコンドリア以外の細胞内オルガネラの膜系は小胞体由来であり、トランスロケータはミトコンドリアと小胞体に存在する。本研究では、ミトコンドリア及び小胞体の膜系において前駆体タンパク質の膜透過、膜への組込みの分子機構を研究してきた遠藤グループと坂口グループが協力してその機能の共通性と特異性を明らかにしつつ、トランスロケータの作動原理を明らかにすることをめざした。研究が進むに従って、当初の予想より複雑、巧妙なシステムであり、また構造的にも動的であることが分ってきた。

3 - 2. 各グループの研究成果

遠藤グループ

酵母ミトコンドリアのトランスロケータに関して

- (1)新規トランスロケータ構成因子を5種類発見し、従来の予想を超えた複雑かつ巧妙な制御を明らかにした。
- (2)新規因子 Tim15 の NMR 構造を決定し、それに基づいた変異体作成と機能解析から、Tim15 がモータ因子であるシャペロン mtHsp70 の凝集を防ぐシャペロン機能をもつことが分かった。
- (3)トランスロケータ TIM23 複合体の機能構造を維持するために必要な新規因子として Tam41 を発見したが、複雑な膜タンパク質複合体の機能発現のための上位の機能維持、メンテナンス因子という一般的概念の例である可能性を示唆した。
- (4)外膜トランスロケータ Tom40 チャンネルが単なる孔ではなく基質の凝集を防ぎ、アンフォールディングを促進するシャペロン機能を持つことを示し、AAA プロテアーゼ等他のチャンネルにもシャペロン機能がある可能性を示唆した。
- (5)膜透過に伴うアンフォールディングと原子間力顕微鏡による力学的アンフォールディングを比較し、前者では変性中間体を不安定化することによりアンフォールディングを促進することを発見した。
- (6)mtHsp70 のアンフォールド機能は、パワーstrokeではなくブラウニアンラチェットが正しいことを証明し長年の論争に決着をつけた。
- (7)ミトコンドリア外膜の受容体 Tom20 が基質認識だけでなく、外膜透過の効率を上げる機能を有することを発見した。
- (8)ミトコンドリア内膜で Tim50 がプレ配列受容体として働くことを発見し、基質認識が複数段階で行われることを示した。
- (9)その他、トランスロケータによるミトコンドリア内での仕分けの具体的な仕組みの解明、トランスロケータが複数

の機能を同時に制御する仕組みの解明など。

阪口グループ

無細胞膜透過実験系に、親和性タグ配列による制御手法を導入し、小胞体トランスロケータの予想外な特性をいくつか明らかにした。

- (1) 小胞体トランスロケータは膜タンパク質の組み込み最中に複数の親水性ポリペプチド鎖を膜貫通状態で収容できること、
- (2) それらはトランスロケータ構成サブユニットに接触していること、
- (3) トランスロケータ孔のポリペプチド鎖輸送駆動力は主にシグナル配列によって供給されること、
- (4) シグナル配列がトランスロケータに進入する際に大きな駆動力が発生することなどを明らかにした(現在は revision 中、他は論文作成中である)。

4. 事後評価結果

4 - 1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

外部発表件数

論文発表		著作物		招待講演		口頭発表		ポスター発表		特許	
国内	国際	国内	国際	国内	海外	国内	海外	国内	国際	国内	国際
0	35	29	3	25	22	13	1	83	28	0	0

この分野は最近大きく研究の進みつつある分野で、この二つのグループはドイツ、アメリカ、オーストラリアの幾つかのグループと熾烈な競争を行っている。それぞれが新規の因子について構造決定を行っており、互角の成果であるが、中でこのグループはモータ因子の2つの仮説に見事な実験で決着をつけた点、また多様な構造のダイナミクスに光をあて、ソフトナノマシンとしてのタンパク質の本質的な特異性の理解に資する成果を挙げた点など、先導的な地位を占めている。当初、採択時の状況では、トランスロケータは汎用性の高い数種と考えられていた。その後、多くの新規因子が発見され、この分野の研究グループ間で新規のトランスロケータの発見競争の観を呈した。その中で先導的位置にあるグループであり続けながら、「作動原理の解明」という本来の課題での多くの成果も挙げたことは高く評価される。発表された論文は、高度なタンパク質複合体の上位の機能維持システムの存在、一見排他的と思われるチャンネルとシャペロンの機能を併せ持つことを発見、シグナル認識とアンフォールディングとの密接な関連を示したものの、複合体の動的な構造、小胞体トランスロケータの柔軟性に関する新知見、大きなドメインの膜透過に関する知見、シグナル配列による駆動力発生の知見など独自の視点からの高い水準のものが多数ある。新しい概念を打ち出した点でも高く評価されている。海外での招待講演も多さがそれを物語っている。

4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

現在、新規因子と新規経路はほぼ出そろったと考えられる。今後各因子の立体構造解明、因子間複合体間の相互作用解析などの動態の解析を通じて、トランスロケータ単独ではなくむしろ「トランスロケータが連携したシステム」として 1000-2000 種類のミトコンドリアタンパク質の交通を管制していく仕組みが明らかになっていくものと考えられる。また、単にトランスロケータの作動原理というテーマにとどまらず、得られた成果は、様々な細胞機能に際してのタンパク質の多様な構造ダイナミクスという、一般的な問題に関わる内容を含んでいる。将来、生物学上重要な研究テーマになるであろう細胞内の中枢制御装置発見に繋がる期待がある。その点での他の分野への影響、貢献が期待される。

この研究で明らかになったシステムの動的な理解の重要性はこの分野の今後の研究の大きな流れになって

いくと思われる。短期的視野での応用技術を目指した研究ではないが、10年、20年後のバイオ技術の展開を予想した時、この研究で得られた成果、生まれた概念がソフトナノマシンの応用段階で重要な位置を占めると考える。具体的にはナノマシンとしてのトランスロケータを改変し、細胞内におけるタンパク質の交通や膜への組み込みを人為的に制御していくような新しいバイオテクノロジー技術や、研究への展開が予想される。

4 - 3 . その他の特記事項

遠藤

- (1) 科学研究費補助金・特定領域研究「タンパク質社会」(H19-23 年)計画研究・代表 「酵母ミトコンドリア・小胞体タンパク質の機能発現・秩序維持システムの解明」
- (2) 科学研究費補助金・基盤研究 S(H18-22 年)代表 「ミトコンドリアタンパク質の交通管制とその改変」
- (3) 科学研究費補助金・特定領域研究「膜インタフェイス」(H19-20 年)公募研究・代表 「酵母ミトコンドリアタンパク質配送における行き先シグナル解読機構の解明」

阪口

- (1) 科学研究費補助金・特定領域研究「タンパク質社会」(H19-23 年)計画研究, 代表
- (2) 科学研究費補助金・グローバル COE プログラム(兵庫県立大学・生命理学研究科)「ピコバイオロジー:原子レベルの生命科学」(H19-23 年)教育研究評価対象者
- (3) 科学研究費補助金・特定領域研究「膜インタフェイス」(H19-20 年)公募分担(本 CREST 研究参加助教, 木田が代表)
- (4) 科学研究費補助金・特定領域研究「革新的ナノバイオ」(H19-20 年)公募分担(本 CREST 研究参加助教, 木田が代表)