

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－スイス研究交流）

1. 研究課題名：「電顕を用いた単粒子画像解析技術の開発による膜タンパク質構造決定の促進」

2. 研究期間：平成 21 年 4 月～平成 24 年 3 月

3. 支援額： 総額 18,900,000 円

4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	佐藤主税	産業技術総合研究所	研究グループ長
研究者	三尾和弘	産業技術総合研究所	主任研究員
研究者	川田正晃	産業技術総合研究所	主任研究員
研究者			
研究者			
研究者			
参加研究者 のべ 3名			

スイス側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Andreas Engel	M. E. Müller Institute for Structural Biology, Biozentrum University of Basel	Professor
研究者	Shirley Müller	M.E. Müller Institute for Structural Biology	Research Scientist
研究者	Philippe Ringler	M.E. Müller Institute for Structural Biology	Research Scientist
研究者	Andreas Schenk	M.E. Müller Institute for Structural Biology	Research Scientist
研究者			
研究者			
参加研究者 のべ 4名			

5. 研究・交流の目的

本研究は、結晶化が難しい膜蛋白質の構造解明のために、結晶を必要としない単粒子画像解析技術を推進・開発することを目的とする。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

不安定なタンパク質複合体の精製サンプルでも、透過電子顕微鏡(TEM)像から複数の準安定構造が決定できるように、画像情報処理を工夫した。すなわち、並列化計算 Gfarm や GridRPC と柔らかな情報処理を用いて、単粒子解析の画像解析プログラムの精度を向上させ、完全会合体の割合が低くても解析できるようにし、実際に不安定な複合体を解析した。筋小胞体膜には様々なイオンチャンネル複合体が組み込まれており、小胞体内部に貯蔵された Ca^{2+} を放出することによって、生理的に重要な役割・機能を果たしている。これまで注目度が低かった分子量 23kDa の 3 回膜貫通タンパク質 Mg23 の機能を解析したところ、選択性の

低い陽イオン透過チャネルであり、その構造を電子顕微鏡像から再構成したところ、主な構造はおよそ 36 量体からなるボール(深皿)状であることを決定した。また一部の複合体は 6 量体のサブ複合体状態に留まっている。全複合体構造とサブ複合体構造の両方を同時に解明し国際誌に発表した。現在、画像処理方法論の論文は作成中である。

また、Signal peptide peptidase (SPP) は、膜内でペプチド鎖を切断する膜タンパク質である。アルツハイマー症の原因となる β -amyloid を生産する γ セクレターゼの活性中心サブユニット Presenilin と似ており、その生化学的な扱い易さから注目を集めている。SPP の立体構造を解明するために、本プロジェクトで電子顕微鏡を用いた単粒子解析を行なった。その結果、SPP は全体として 4 量体による 4 回対称の弾丸様の構造であった。膜貫通部位の内部には、親水性環境の隙間があることが判明し、それはタンパク質の切断反応に水分子が必要であることと良く一致する。また、タンパク質の外壁の膜貫通側には薄い部分があり、基質となるシグナル配列を含むペプチド鎖の導入・排出口と考えられる。

6-2 人的交流の成果

- ・日本側の大学院生が、スイス側の共同研究者に指導を受けた。
- ・日本側の研究者は、スイス側の大学院生をのべ 30 時間に渡って指導した。
- ・スイス側の大学院生の中には、博士号取得後に日本側の本研究室での研究を希望する者が出ている。

7. 主な論文発表・特許等 (5 件以内)

相手国側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	備考
論文	Mio K, Mio M, Arisaka F, Sato M, Sato C. The C-terminal coiled-coil of the bacterial voltage-gated sodium channel NaChBac is not essential for tetramer formation, but stabilizes subunit-to-subunit interactions. <i>Prog. Biophys. Mol. Biol.</i> 103, 111-121, 2010	
論文	Mio K, Maruyama Y, Ogura T, Kawata M, Moriya T, Mio K, Sato C. Single particle reconstruction of membrane proteins : A tool for understanding the 3D structure of disease-related macromolecules. <i>Prog. Biophys. Mol. Biol.</i> 103, 122-130, 2010	
論文	Venturi E, Mio K, Nishi M, Ogura T, Moriya T, Pitt SJ, Okuda K, Kakizawa S, Sitsapesan R, Sato C, Takeshima H. Mitsugumin 23 Forms a Massive Bowl-Shaped Assembly and anion-Conducting Channel. <i>Biochemistry.</i> 50(13), 2623-2632, 2011	
論文	Miyashita H, Maruyama Y, Isshiki H, Osawa S, Ogura T, Mio K, Sato C, Tomita T, Iwatsubo T. Three-dimensional structure of the signal peptide peptidase. <i>J. Biol. Chem.</i> 286(29), 26188-26197, 2011	
論文	Sato C, Manaka S, Nakane D, Nishiyama H, Suga M, Nishizaka T, Miyata M, Maruyama Y. Rapid imaging of mycoplasma in solution using Atmospheric Scanning Electron Microscopy (ASEM). <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> BBRC. 417(4), 1213-1218, 2012	