

提出日：平成 29 年 5 月 1 9 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	マラリア原虫アピコプラストへの蛋白質輸送における NMR スペクトル解析	
研究代表者	氏名	齊藤 貴士
	所属機関名・部局名	北海道薬科大学・薬学部
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
	○	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		
<p>マラリア感染症を引き起こすマラリア原虫はアピコンプレックス門に属し、葉緑体が退化したと考えられている四重包膜に囲まれた二次共生色素体：アピコプラストをもつ。四重包膜のうち外側は小胞体膜と共生体の細胞膜由来、内側の二膜は葉緑体由来と考えられている。アピコプラストは脂肪酸などの生合成反応の場として機能しておりマラリア原虫の生存に必須である。アピコプラストで使用されるタンパク質（アピコプラスト蛋白質）の大部分は小胞体で合成された後、様々な膜透過関連タンパク質の助けをかりて四つの膜を通過しアピコプラスト内へと運ばれていく。本研究ではアピコプラスト膜透過関連タンパク質の 1 つである <b>Tic22</b> によるアピコプラスト蛋白質の認識メカニズムについて解明を目指した。</p> <p>アピコプラスト蛋白質は細胞質で合成される際、N 末端にアピコプラストへ輸送されるための情報が書かれたシグナル配列とトランジット配列が付加された状態で合成される。そこで本研究では表面プラズモン共鳴(SPR)法と NMR スペクトル解析を組み合わせ、<b>Tic22</b> が①シグナル配列、②トランジット配列、③アンフォールド状態の前駆体タンパク質本体のいずれを認識しているのかについて解析した。SPR 実験においては、<b>Tic22</b> とトランジット配列の間には、相互作用が確認できなかった。また、シグナル配列-トランジット配列ペプチドにおいては、非特異的な結合と思われる変化が観察された。一方、前駆体蛋白質本体との間には解離定数が 30 <math>\mu\text{M}</math> 程度の結合が確認された。NMR スペクトルによるケミカルシフトパターン実験では、<math>^{15}\text{N}</math> ラベル <b>Tic22</b> に対するし滴定実験を行った。トランジット配列の滴定実験では SPR 実験の結果と同様、化学シフトの変化すなわち相互作用は観察されなかった。同様にシグナル配列-トランジット配列ペプチドとの間にも化学シフトの変化は観察されなかった。一方、前駆体蛋白質本体の滴定実験ではいくつかのシグナルで大きな化学シフト変化が観察された。これは、<b>Tic22</b> が前駆体蛋白質本体との間に、特異的に認識していることを意味している。これらの結果から <b>Tic22</b> はシグナル配列やトランジット配列ではなく、アンフォールド状態のアピコプラスト蛋白質本体を認識していることが明らかとなった。</p>		