

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058010

研究課題名（和文） 異常タンパク質応答の生理的役割の解明

研究課題名（英文） Analyses of physiological roles of unfolded protein response.

研究代表者

河野 憲二（KOHNO KENJI）

奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・教授

研究者番号：50142005

研究分野：分子細胞生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：小胞体ストレス、蛋白質品質管理、シグナル伝達、転写翻訳調節、HSP40

### 1. 研究計画の概要

(1) 小胞体内の異常タンパク質感知機構や動物組織における各センサーのUPR(Unfolded Protein Response:異常タンパク質応答)の解析、(2) 発生・分化や各種組織の機能維持におけるUPR経路活性化の生理的役割の解明、(3) UPR時における小胞体やサイトゾルHsp40の生理機能、の3点に研究を集約して進める。具体的には、小胞体センサーIRE1は異常タンパク質の何を認識しているのか、IRE1の活性化機構、XBP1 mRNAのサイトゾルにおけるスプライシング機構、UPRからアポトシスに至る機構の解析、肝臓や膵臓におけるUPRの生理的意味や役割、Hsp40の動物個体における生理機能を明らかにすることを目的とする。

### 2. 研究の進捗状況

(1) ①小胞体ストレスセンサー酵母 Ire1のストレス感知機構の解析を行い、N末側領域が直接異常タンパク質を認識していることを明らかにするとともに、活性化は2ステップで起きること、すなわちステップ1はIre1のクラスター化、ステップ2は異常タンパク質との結合により、おそらくサイトゾル側領域のコンフォーメーション変化により活性化する、という2ステップ活性化モデルを提唱した。②哺乳動物IRE1 $\alpha$ -XBP1経路について検討したところ、非スプライシング型のXBP1u mRNAは、翻訳途上のXBP1uを利用してmRNA-Ribosome-XBP1u複合体を小胞体膜上に繫留することで、ストレス時

に効率よくスプライシングを起こせることが判明した。

(2) マウスではIRE1 $\alpha$ の遺伝子破壊を行うと胎生致死となることから、IRE1 $\alpha$ はマウスの発生にとって必須遺伝子であるが、その理由は明らかとなっていない。IRE1 $\alpha$ -XBP1経路は胎盤で強く発動することを見いだしたので、コンディショナルKOマウス(CKO)を作製し、全身でIRE1 $\alpha$ が欠失するマウスを作製した。IRE1 $\alpha$ は胎盤の発達に重要であるが、胎盤以外の組織でIRE1 $\alpha$ が欠失するCKOマウスを作製したところ、驚くことに一見正常なマウスとして生存することがわかった。寿命に伴う変化は今後の検討課題である。

(3) 新規のHsp40ファミリーに属するDNAJB12遺伝子の解析を行った。DNAJB12はII型の小胞体膜タンパク質であり、J領域をサイトゾル側に向けた興味深い膜貫通タンパク質である。小胞体関連分解(ERAD)に関与する新しい因子であることを明らかにしつつある。

### 3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

(理由)

Ire1の活性化機構に関しては、世界に先駆けて、クラスター化が起こることを示しただけでなくIre1と異常タンパク質とが直接結合する可能性があることをin vitroで示した。また哺乳動物XBP1 mRNAが翻訳途上のXBP1uを利用して小胞体膜に結合することを示した。これは、タンパク質がmRNAの

局在を決めるという新しい概念を提示したことになる。また IRE1 $\alpha$  の CDK の結果も予想を覆す結果であり、当初の予想を上回る結果を得ている。

#### 4. 今後の研究の推進方策

計画通り進んでいるものは、そのまま進めていく。全く未報告の新しい成果に関しては至急公表できるようデータを整理し必要な実験を行っていく。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① Iwawaki, T., Akai, R., Yamanaka, S., and Kohno, K. Function of IRE1 $\alpha$  in the placenta is essential for placental development and embryonic viability. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 16657-16662 (2009) 査読有り
- ② Yanagitani, K., Imagawa, Y., Iwawaki, T., Hosoda, A., Saito, M., Kimata, Y., and Kohno, K. Cotranslational targeting of XBP1 protein to the membrane promotes cytoplasmic splicing of its own mRNA. *Mol. Cell* 34, 191-200 (2009) 査読有り
- ③ Kimata, Y., Ito, T., Ishiwata-Kimata, Y., Suzuki, T., Oikawa, D., Takeuchi, M., and Kohno, K. Two regulatory steps of ER-stress sensor Ire1 involving its cluster formation and binding to unfolded proteins. *J. Cell Biol.* 179, 75-86 (2007) 査読有り

[学会発表] (計 39 件)

- ① Kenji Kohno; IRE1 $\beta$  is a key molecule for ER quality control in goblet cell. The 4<sup>th</sup> International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine. 2009,10,7 Sapporo, (invited)
- ② Kenji Kohno; Dynamic regulation of XBP1 mRNA distribution in the ER stress response. Gordon Research Conferences: Stress Proteins in Growth, Development & Disease 2009, 7, 1 Proctor Academy, NH, USA, (invited)

[図書] (計 3 件)

- ① 柳谷耕太、河野憲二、共立出版、蛋白質核酸酵素、2009年、7ページ

[産業財産権]

○取得状況 (計 1 件)

名称 : Diabetes model animal. United States Patent

発明者 : 河野憲二

権利者 : 奈良先端科学技術大学院大学

種類 : Patent

番号 : No: US 7,642,401 B2

取得年月日 : 2010.1.5

国内外の別 : 外国

[その他]

ホームページアドレス

<http://bsw3.naist.jp/kouno/kouno.html>