

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790064

研究課題名（和文） ショウジョウバエを用いた新奇プロテアソーム機能調節因子の探索

研究課題名（英文） Exploration of novel proteasome modulating proteins by using *Drosophila melanogaster*

研究代表者

濱崎 純 (HAMAZAKI JUN)

東京大学・大学院薬学系研究科・助教

研究者番号：80533588

研究成果の概要（和文）：

プロテアソームは真核生物内で起こるあらゆる生命現象を円滑に進行するために必須の蛋白質分解酵素である。近年になり、哺乳類をはじめとする高等生物ではプロテアソームが多様性を獲得し、高等動物特有の生命現象に重要な働きをしている事が明らかになり始め、その中でもヒトにおける病態とプロテアソームの制御システムの質的・量的異常の関連が注目を浴びている。しかしながらこれまで研究が進んでいた酵母におけるプロテアソーム制御システムは必ずしも高等動物に当てはまらず、高等動物におけるプロテアソームの動作原理は未解明の部分が多かった。申請者は高等動物特有の質的・量的制御機構を明らかにする事を目的とし、高等動物であるショウジョウバエを用いた遺伝学的手法により新奇プロテアソーム制御因子の探索を行なった。この結果、いくつかの候補遺伝子を同定し、その機能解析を現在行なっている。これらの得られた知見をもとに、ヒトの疾患におけるプロテアソーム機能異常について新たな視点からの理解およびプロテアソームを標的とした創薬に関する分子基盤を提供する事を将来的な目標としている。

研究成果の概要（英文）：

Proteasome is an essential protease complex that is conserved in eukaryotes. Recently, the proteasomes in higher organisms are known to acquire the diversity and play important roles in biological events. Particularly, the association of the regulation system of the proteasomes and the pathophysiology are noticed. Although, the previously elucidated proteasome regulation system brought from yeast analysis could not be applied to higher organisms. To identify novel factors that modulate proteasome function in higher organisms, genetic study was done by using *Drosophila melanogaster*. As a result, I identified some candidate genes. Now, I am studying the molecular functions of these genes. By using this knowledge, I plan to provide a novel point of view about the aberrant function of the proteasome in human and a molecular basis about the drug discovery targeting the proteasomes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

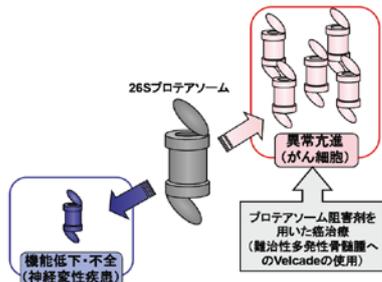
科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：分子生物学 プロテアソーム ショウジョウバエ

1. 研究開始当初の背景

プロテアソームは真核細胞におけるあらゆる生命現象に関わる重要な酵素である。プロテアソームの機能異常が様々な疾患に関係する事が明らかとなってきたが、どのようにプロテアソームが機能調節をしているかは明らかでなかった(図1)。また、これまでの酵母により得られた知見がそのまま高等動物プロテアソームに当てはまる訳ではないという事も知られてきたことから、高等動物を用いたプロテアソームの機能制御に関する研究は重要性を増していた。しかしながら、酵母研究において強力であった網羅的な遺伝学的解析を行なうにあたり、適切なモデル生物を用いた解析系を作出する事が必要であった。

プロテアソーム機能の適切な調節は高次細胞機能制御に必須である



Q:高等生物特異的プロテアソーム機能調節機構は存在するのか?

図1：プロテアソーム機能調節と疾患の関連

2. 研究の目的

高等動物プロテアソーム機能を調節する新奇因子を同定する事で、プロテアソームの機能調節機構及び新たな生物学的機能を明らかにする。また、これらの知見から新たな創薬に関する分子基盤を提供する。

3. 研究の方法

遺伝学的なアプローチが容易なショウジョウバエを用いて、下記のアプローチによりプロテアソーム遺伝子と遺伝的に相互作用する遺伝子を探索した。

- (1) 単独 RNAi による表現型の観察によるスターター系統の樹立
- (2) RNAi ライブラリー系統、EMS 突然変異誘起系統、トランスジェニック系統との交配によるプロテアソーム機能修飾因子のスクリーニング

- (3) アミノ酸アナログを用いたプロテアソーム機能異常を来す単独変異系統のスクリーニング

具体的には、プロテアソーム関連遺伝子をノックダウンした系統を作製し、この表現型を減弱、増悪化する遺伝子系統を交配により探索した(図2)。いくつかの器官、臓器においてノックダウンを任意に行なうことができる Gal4-UAS システムを用いて適宜表現型の観察しやすい条件を検討した上で探索を行なった。

RNAi系統を用いた新奇プロテアソーム機能調節因子の探索

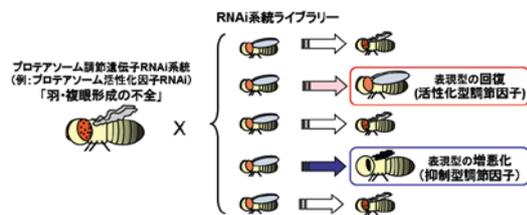


図2：スクリーニングの概要

4. 研究成果

いくつかの候補遺伝子を同定し、現在これらの詳細な機能について解析を進めている。また、探索方法をアレンジ・改良しながら現在も継続して進めている。新規プロテアソーム機能調節因子の候補ノックダウン系統での興味深い表現型を発見し、新たにこれをスターターとし、新規因子の機能解明に向けて解析を行なっている。(図3)

ap-GAL4	
UAS-lacZ IR (コントロール)	UAS-X IR (プロテアソーム機能調節因子)

図 3 : 新規プロテアソーム機能調節因子候補のノックダウン系統の表現型

アミノ酸アナログを用いたプロテアソーム機能異常を来す単独変異体のスクリーニングは、条件検討において樹立が容易でない事が明らかとなったが、挑戦する意義のある実験系であるため、試行錯誤を現在も継続中である。

5. 主な発表論文等

(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 5 件)

(1)Sasaki K, Hamazaki J, Koike M, Hirano Y, Komatsu M, Uchiyama Y, Tanaka K, Murata S.

PAC1 gene knockout reveals an essential role of chaperon-mediated 20S proteasome biogenesis and latent 20S proteasomes in cellular homeostasis.

Molecular Cellular Biology 30(15), 3864-74. 5 (査読有) 2010

(2)Nishio K, Kim SW, Kawai K, Mizushima T, Yamane T, Hamazaki J, Murata S, Tanaka K, Morimoto Y.

Crystal structure of the de-ubiquitinating enzyme UCH37 (human UCH-L5) catalytic domain.

Biochemical and Biophysical Research Communications, 390 (3), 855-60. (査読有) 2009

(3)Kaneko T, Hamazaki J, Iemura S, Sasaki K, Furuyama K, Natsume T, Tanaka K, *Murata S.

Assembly pathway of the Mammalian proteasome base subcomplex is mediated by multiple specific chaperon.

Cell, 137 (5), 914-25. (査読有) 2009

(4)Tonoki A, Kuranaga E, Tomioka

T, Hamazaki J, Murata S, Tanaka K, *Miura M.

Genetic evidence linking age-dependent attenuation of the 26S proteasome with the aging process.

Molecular Cellular Biology 29 (4), 1095-106. (査読有) 2009

(5)Tokui K, *Adachi H, Waza M, Katsuno M, Minamiyama M, Doi H, Tanaka K, Hamazaki J, Murata S, Tanaka F, *Sobue G.

17-DMAG ameliorates polyglutamine-mediated motor neuron degeneration through well-preserved proteasome function in an SBMA model mouse.

Human Molecular Genetics, 18 (5), 898-910. (査読有) 2009

[学会発表] (計 2 件)

1: 荒田 義之他、哺乳類新規プロテアソーム会合因子の探索 BMB2010 (日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会)、2010年12月7-10日、神戸

2: 上地 浩之他、ショウジョウバエを用いたプロテアソーム遺伝学的相互作用因子の探索 BMB2010 (日本分子生物学会年会・日本生化学会大会合同大会)、2010年12月7-10日、神戸

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱崎 純 (HAMAZAKI JUN)
東京大学・大学院薬学系研究科・助教
研究者番号：80533588

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし