

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2014～2016

課題番号：26290069

研究課題名（和文）化学量不均衡を避けるメカニズムの解明

研究課題名（英文）Analysis of mechanisms to avoid stoichiometry imbalance

研究代表者

守屋 央朗（Moriya, Hisao）

岡山大学・異分野融合先端研究コア・准教授

研究者番号：60500808

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：細胞内のタンパク質は複数のサブユニットからなる複合体を形成していることが多い。複合体の量比が乱れた状態は、細胞にとって様々な悪影響となることが知られている。本研究では、出芽酵母を研究材料として、複合体の量比の乱れを回避する一般的なメカニズムを明らかにした。具体的には、遺伝子のコピー数の上昇を人工的に起こした際に、タンパク質発現量の上昇に結びつかないタンパク質を複数同定し、それらの「量の緩衝」が、ユビキチン-プロテアソーム系による余剰なタンパク質の積極的な分解により行われている事を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：About one third of proteins function as protein complexes. Imbalances in the stoichiometry of subunits constituting protein complexes sometimes cause harmful effects on cellular functions. In this study, using budding yeast, we revealed a mechanism to avoid stoichiometry imbalances in protein complexes. We identified several proteins whose expressions were not increased as expected when their gene copy numbers were artificially increased. The buffering of protein expression was performed through active degradation of excess proteins by the ubiquitin-proteasome system.

研究分野：システム生物学

キーワード：化学量不均衡 出芽酵母 遺伝子発現 タンパク質分解 ロバストネス

1. 研究開始当初の背景

申請者らはこれまでの研究で、タンパク質複合体の構成成分の不均衡(化学量不均衡)が細胞システムを容易に破綻させる原因となることを明らかにした。一方、そのような破綻の原因となる複合体は細胞中にわずかにしか存在せず、多くの複合体の化学量不均衡は何らかの分子メカニズムにより回避されていることが予想された。

2. 研究の目的

そこで本研究の目的は、細胞内タンパク質の化学量不均衡を回避する分子メカニズムを明らかにする事とした。本研究ではその候補と考えられる、過剰な複合体サブユニットの速やかな分解が、どのような複合体の化学量不均衡を回避するために働いているのか、その全体像を明らかにする事を目的とした。

3. 研究の方法

出芽酵母の第一染色体上の遺伝子を解析の対象とし、プラスミドによりコピー数を上げた際に遺伝子1コピーあたりから発現するタンパク質の量が下がる(コピー数上昇が緩衝される)ものを探索し、その緩衝がどのようなメカニズムで起きるのかを解析した。

4. 研究成果

第一染色体上の54の遺伝子について解析を行ったところ、緩衝を受ける5つのタンパク質を同定した。これらのタンパク質はタンパク質複合体の構成成分をコードしており、これら5つのタンパク質を含むタンパク質複合体の他の構成成分の多くも、同様にタンパク質発現の緩衝を受けた。このことから、予想通り化学量不均衡を回避するメカニズムが存在する事が示唆された。緩衝作用のメカニズムを明らかにするために、タンパク質発現のどの段階で緩衝が起きているのかを調べたところ、転写段階・翻訳段階ではなく、タンパク質分解の加速、特にユビキチンプロテアソーム系による分解に加速によって行われていることを示唆する結果を得た。

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)すべて査読有

Ishikawa K, Makanae K, Iwasaki S, Ingolia NT, Moriya H., Post-Translational Dosage Compensation Buffers Genetic Perturbations to Stoichiometry of Protein Complexes., PLoS Genet. 2017 Jan 25;13(1):e1006554. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006554
Kintaka R, Makanae K, Moriya H., Cellular growth defects triggered by an overload of protein localization processes., Sci Rep. 2016;6:31774. DOI: 10.1038/srep31774
Moriya H., Quantitative nature of

overexpression experiments., Mol Biol Cell. 2015 Nov 5;26(22):3932-9. DOI: 10.1091/mbc.E15-07-0512

Bonney ME, Moriya H., Amon A., Aneuploid proliferation defects in yeast are not driven by copy number changes of a few dosage-sensitive genes., Genes Dev. 2015 May 1;29(9):898-903. DOI: 10.1101/gad.261743.115

Makanae K, Kintaka R, Ishikawa K, Moriya H., Small Toxic Protein Encoded on Chromosome VII of *Saccharomyces cerevisiae.*, PLoS One. 2015;10(3):e0120678. DOI: 10.1371/journal.pone.0120678

[学会発表](計52件)

江口優一, 蒔苗浩司, 堀 良美, 蓮沼誠久, 守屋央朗, 解糖系タンパク質の発現限界を決める要因, 第34回 YEAST WORKSHOP, 島根県松江市, 2016年11月4日

堀内智司, 金高令子, 守屋央朗, デグロン付加による蛍光タンパク質の改良, 第34回 YEAST WORKSHOP, 島根県松江市, 2016年11月4日

金高令子, 蒔苗浩司, Charles Boone, 守屋央朗, 細胞内局在化プロセスへの過負荷による細胞増殖への悪影響, 第39回日本分子生物学会年会, 神奈川県横浜市, 2016年11月4日

Hisao Moriya, Consequences of protein overexpression, The 26th Hot Spring Harbor International Symposium, 福岡県福岡市, 2016年11月2日

守屋央朗, 金高令子, 江口優一, 細胞内のタンパク質輸送のキャパシティと制限因子, 細胞を創る研究会 9.0, 東京都新宿区, 2016年9月21日

Hisao Moriya, Reiko Kintaka, Charles Boone, Koji Ishikawa, Yuichi Eguchi, Consequences of protein overexpression, 14th International Congress on Yeasts, 兵庫県淡路市, 2016年9月11日

Yuichi Eguchi, Koji Makanae, Yoshimi Hori, Tomohisa Hasunuma, Hisao Moriya, Expression limits of glycolytic enzymes in yeast, 14th International Congress on Yeasts, 兵庫県淡路市, 2016年9月11日

Reiko Kintaka, Koji Makanae, Hisao Moriya, Overloads of protein localization process cause cellular growth defects, 14th International Congress on Yeasts, 兵庫県淡路市, 2016年9月11日

守屋央朗, 堀内智司, 佐藤あやの, cODC1 デグロンによるオルガネラ局在

- 観察の改良, 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会, 兵庫県神戸市, 2016年9月9日
 石川浩史, 蒔苗浩司, 岩崎信太郎, Nicholas T. Ingolia, 守屋央朗, 遺伝子発現量の乱れをタンパク質レベルで補償する機構の解析, 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会, 兵庫県神戸市, 2016年9月9日
 江口優一, 蒔苗浩司, 堀 良美, 蓮沼誠久, 守屋央朗, タンパク質発現量の限界を規定する要因の解析, 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会, 兵庫県神戸市, 2016年9月9日
 金高令子, Charles Boone, 守屋央朗, 細胞内局在化プロセスへの過負荷による細胞増殖への悪影響, 酵母遺伝学フォーラム第49回研究報告会, 兵庫県神戸市, 2016年9月9日
 Koji Ishikawa, Koji Makanae, Hisao Moriya, Perturbed stoichiometry of complex subunits is circumvented by protein-level dosage compensation, The 9th Asian Young Researchers Conference on Computational and Omics Biology, Biopolis, Singapore, 2016年1月21日
 江口優一, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質過剰発現に対する解糖系のロバストネス解析, 第38回日本分子生物学会年会, 兵庫県神戸市, 2015年12月2日
 石川浩史, 蒔苗浩司, 守屋央朗, 遺伝子発現系への摂動をタンパク質レベルで緩衝する新たな分子機構の解析, 第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会合同大会, 兵庫県神戸市, 2015年12月1日
守屋央朗, 石川浩史, 金高令子, 蒔苗浩司, タンパク質の過剰発現が及ぼす影響とそれに対する細胞のストラテジー, 第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会合同大会, 兵庫県神戸市, 2015年12月1日
 Yuichi Eguchi, Koji Makanae, Hisao Moriya, Expression limits of glycolytic enzymes in yeast., 16th International Conference on Systems Biology, Biopolis, Singapore, 2015年11月23日
 Koji Ishikawa, Koji Makanae, Hisao Moriya, Robust gene expression under genetic perturbation: New mechanism maintaining stoichiometry of protein complex, The 16th International Conference on Systems Biology, Biopolis, Singapore, 2015年11月23日
 江口優一, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質の発現量を規定する要因の解析, 第33回 YEAST WORKSHOP, 岡山県倉敷市, 2015年11月14日
 石川浩史, 蒔苗浩司, 守屋央朗, 出芽酵母における遺伝子発現の乱れに対してタンパク質発現量を調整する新規分子機構の体系的な解析, 第33回 YEAST WORKSHOP, 岡山県倉敷市, 2015年11月13日
 21 石川浩史, 蒔苗浩司, 守屋央朗, 遺伝子発現の摂動に対してタンパク質発現量を調整する新たな分子機構の解析, 生命情報科学若手の会第7回研究会, 山形県鶴岡市, 2015年10月1日
 22 石川浩史, 遺伝子発現の摂動を緩衝する新たなメカニズム, 第2回摂動生物学研究会, 奈良県生駒市, 2015年9月11日
 23 江口優一, タンパク質発現への摂動に対する酵母解糖系のロバストネス, 第2回摂動生物学研究会, 奈良県生駒市, 2015年9月11日
 24 守屋央朗, 山本克裕, 江口優一, 蒔苗浩司, 出芽酵母のタンパク質発現キャパシティの推定, 第48回酵母遺伝学フォーラム, 広島県東広島市, 2015年9月2日
 25 石川浩史, 蒔苗浩司, 守屋央朗, 遺伝子発現の摂動に対してタンパク質発現量を調整する新たな分子機構の解析, 酵母遺伝学フォーラム第48回研究報告会, 広島県東広島市, 2015年8月31日
 26 江口優一, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質の量的摂動に対する解糖系のロバストネス解析, 第48回酵母遺伝学フォーラム, 広島県東広島市, 2015年8月31日
 27 Koji Ishikawa, Koji Makanae, Hisao Moriya, Systematic identification of dosage compensation proteins in *Saccharomyces cerevisiae*, International Synthetic and Systems Biology Summer School 2015, Taormina, Italy, 2015年7月5日
 28 守屋央朗, 細胞の持つタンパク質発現のキャパシティを測る, 日本農芸化学会2015年度大会, 岡山県岡山市, 2015年3月29日
 29 Koji Ishikawa, Koji Makanae, Ikuyo Sugimoto, Hisao Moriya, Systematic identification of proteins whose expressions are compensated upon expression perturbation in *Saccharomyces cerevisiae*, Cold Spring Harbor Meeting Systems Biology: Global Regulation of Gene Expression 2015, Commonwealth of Puerto Rico, USA, 2015年1月31日
 30 守屋央朗, 生合成キャパシティの拡大, 新学術領域研究生合成マシナリー: 生物活性物質構造多様創出システム

- の解明と制御 第 8 回公開シンポジウム, 東京都文京区, 2014 年 12 月 5 日
- 31 金高令子, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質過剰がもたらす細胞毒性のモデルタンパク質を用いた解析, 第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜市西区, 2014 年 11 月 25 日
- 32 石川浩史, 蒔苗浩司, 杉本育代, 守屋央朗, 出芽酵母における遺伝子発現量の乱れを補正する機構のシステムティックな解析, 第 37 回日本分子生物学会年会, 横浜市西区, 2014 年 11 月 25 日
- 33 金高令子, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質過剰がもたらす細胞毒性のモデルタンパク質を用いた解析, 第 32 回 Yeast Workshop, 広島県呉市, 2014 年 11 月 15 日
- 34 石川浩史, 蒔苗浩司, 杉本育代, 守屋央朗, 出芽酵母における遺伝子発現量の乱れを補正する機構のシステムティック解析, 第 32 回 Yeast Workshop, 広島県呉市, 2014 年 11 月 15 日
- 35 守屋央朗, タンパク質発現量の限界を決める要素は何か?, 「細胞を創る」研究会 7.0, 東京都文京区, 2014 年 11 月 14 日
- 36 守屋央朗, 細胞システムのロバストネスを測る, 第 87 回日本生化学会大会, 京都府京都市, 2014 年 10 月 15 日
- 37 守屋央朗, 細胞システムのロバストネスを測る, 制御・情報理論による生物システムのロバストネス解析と設計 第一回講演会, 東京都文京区, 2014 年 9 月 18 日
- 38 守屋央朗, 石川浩史, 金高令子, 蒔苗浩司, 出芽酵母ゲノムに(たまたま)コードされていた, 毒性のある小さなタンパク質, 酵母遺伝学フォーラム第 47 回研究報告会, 東京都文京区, 2014 年 9 月 1 日
- 39 金高令子, 蒔苗浩司, 守屋央朗, タンパク質過剰がもたらす細胞毒性のモデルタンパク質を用いた解析, 酵母遺伝学フォーラム第 47 回研究報告会, 東京都文京区, 2014 年 9 月 1 日
- 40 石川浩史, 蒔苗浩司, 杉本育代, 守屋央朗, 遺伝子発現量の乱れを補正する機構のシステムティックな解析, 酵母遺伝学フォーラム第 47 回研究報告会, 東京都文京区, 2014 年 9 月 1 日
- 41 Reiko Kintaka, Koji Makanae, Hisao Moriya, Evaluation of cytotoxicity caused by overproduction of localized signal attached GFPs, Yeast genetics meeting 2014, ワシントン州, アメリカ, 2014 年 7 月 29 日
- 42 守屋央朗, タンパク質の発現量の限界を測る., 日本プロテオーム学会 2014 年会, 茨城県つくば市, 2014 年 7 月 17 日

- 43 守屋央朗, 酵母の生合成キャパシティの拡大, 生合成マシナリー:生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御 第 7 回公開シンポジウム, 東京都目黒区, 2014 年 6 月 21 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://tenure5.vbl.okayama-u.ac.jp/HMIa/b/>

<http://tenure5.vbl.okayama-u.ac.jp/~his/aom/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

守屋 央朗 (MORIYA, Hisao)

岡山大学異分野融合先端研究コア・准教授
研究者番号: 60500808

(2) 研究分担者

牧野 能士 (MAKINO, Takashi)

東北大学大学院生命科学研究科・准教授
研究者番号: 20443442