

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058002

研究課題名（和文） プリオンなどの構造多形と機能発現システムの再構築

研究課題名（英文） Prion propagation and reconstitution of protein functions

研究代表者

田口 英樹 (TAGUCHI HIDEKI)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：40272710

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物科学

キーワード：タンパク質 フォールディング シャペロン アミロイド プリオン

1. 研究計画の概要

(1) プリオンを含むタンパク質の構造多形の生物学的意義の解明

アミノ酸配列さえ決まれば唯一の立体構造が決まるというタンパク質の基本原理は大きく揺らいできている。いったんある形にフォールディングしたあと秩序維持機構が破綻し、プリオンやアミロイドのような凝集に構造転換してしまう場合や、そもそも特定の立体構造を持たない場合（天然変性タンパク質）のような「構造多形」がタンパク質の機能発現に重要なことが近年わかってきたからである。そこで本研究では、タンパク質の構造多形が細胞内のタンパク質社会の中でどのような役割を担っているのかをさまざまなアプローチで調べることを目的とする。

(2) 構成的アプローチによるタンパク質機能発現システムの再構築

細胞という複雑系内の現象を理解するために、通常は何らかのプロープ（抗体、蛍光、RI など）を導入して複雑な中から特定のものだけを調べる分析的な手法が取られる。が、そうやってわかってきた現象をより深く正確に理解するためにはできるだけ不要なものを取り除き単純化した実験系が必要である。そこで本研究では、最近実用化された必須因子のみから構成された無細胞タンパク質合成系（PURE システム）を基盤技術としてタンパク質がいかに機能発現を達成しているのか、再構築により理解を深めることを目的とする。

2. 研究の進捗状況

(1) プリオンを含むタンパク質の構造多形の生物学的意義の解明

タンパク質の中には本来の立体構造以外にアミロイドやプリオンのような分子間シートよりなる秩序をもった凝集状態に構造変換するものがあることがわかってきた。中でも、プリオンはタンパク質の異常構造が増殖しつつ伝播していくことが知られているが、その形成機構や細胞内での動態などについてほとんどわかっていない。これまでに、酵母プリオンをモデルとして、酵母プリオン Sup35 タンパク質の細胞内での動態を調べる新しい方法を確立して、プリオン伝播に関する知見を得た。

(2) 構成的アプローチによるタンパク質機能発現システムの再構築

タンパク質が機能を発現するには、ポリペプチドが合成されたあとにフォールディングする必要がある。従来のフォールディング研究は、精製したタンパク質を尿素などの変性剤で変性させてからフォールディングするプロセスを調べてきたが、リボソームでの翻訳というベクトルをもったタンパク質合成時のフォールディングに適用できるかどうかは定かではない。そこで、本研究では、必須因子のみから構成された無細胞タンパク質合成系（PURE システム）を基盤技術として、翻訳に共役したタンパク質フォールディングを調べている。これまでシャペロンを含まない条件にて大腸菌の全蛋白質を発現させ、その凝集のなりやすさを評価し、タンパク質の凝集に関する新知見を得た。さらに、大腸菌の主要シャペロン（GroEL 系、DnaK 系、Trigger Factor）を加えた PURE システムにて凝集しやすいタンパク質を合成して、

どのタンパク質にどのシャペロンの効果があるのかを調べた。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由) 研究計画(2)においては無細胞タンパク質合成系の研究と in vivo でのシャペロニン研究が思いがけず融合し、今後新しい展開が期待できる。

4. 今後の研究の推進方策

当研究室オリジナルの手法により当初の計画以上に研究が進展し、新たな方向性が見えてきている。アドバンテージを維持したまま研究を推進する。

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 18 件)

1. Fujiwara, K., Ishihama, Y., Nakahigashi, K., Soga, T. and Taguchi, H. A systematic survey of in vivo obligate chaperonin-dependent substrates.: EMBO J. (2010) in press (査読有り)

2. Niwa, T., Ying, B. W., Saito, K., Jin, W. Z., Takada, S., Ueda, T. Taguchi, H.: Bimodal protein solubility distribution revealed by an aggregation analysis of the entire ensemble of Escherichia coli proteins.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 4201-4206 (2009) (査読有り)

3. Koike-Takeshita, A., Yoshida, M., Taguchi, H., Revisiting the GroEL-GroES reaction cycle via the symmetrical intermediate implied by novel aspects of the GroEL (D398A) mutant., J. Biol. Chem. 283, 23774-23781 (2008) (selected as JBC Paper of the Week) (査読有り)

4. Fujiwara, K. and Taguchi, H.: Filamentous morphology in GroE-depleted Escherichia coli induced by impaired folding of FtsE., J. Bacteriol. 189, 5860-5866 (2007) (査読有り)

[学会発表](計 10 件)

Hideki Taguchi: Direct observation of yeast prion Sup35 dynamics in single-living cells, Cold Spring Harbor Laboratory meeting on Molecular Chaperones and Stress Responses, 2008 年

4 月 30 日~5 月 4 日 Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA

2. Hideki Taguchi: Bimodal protein solubility distribution revealed by an aggregation analysis of the entire ensemble of Escherichia coli proteins.: EMBO Conference "The Biology of Molecular Chaperones" 2009 年 5 月 23 日~28 日 Dubrovnik, Croatia

[図書](計 2 件)

1. タンパク質の一生: 集中マスター (遠藤斗志也, 森和俊, 田口英樹編) 羊土社 (2007) 総ページ数 147 ページ

[その他]

ホームページ

<http://molbio.chem.t.u-tokyo.ac.jp/taguchi/>