

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：19058004

研究課題名（和文） 分子シャペロンによるタンパク質のハンドリング

研究課題名（英文） Protein handling by molecular chaperones

研究代表者

吉田 賢右 (YOSHIDA MASASUKE)

京都産業大学・工学部・教授

研究者番号： 90049073

研究分野：生物系

科研費の分科・細目：生物科学 構造生物学・細胞生物学

キーワード：分子シャペロン、GroEL、ClpB、FtsH

1. 研究計画の概要

分子シャペロンが、基質蛋白質をどのようにハンドリング（操作）しているか、基本的な方式が3つあると思われる。第1は、FtsHやClpBなどで、タンパク質をヒモにしてリングの穴の中を糸通しする場合である。第2は、GroEL/ESなどで、分子シャペロンの分子内空洞の中に変性タンパク質を閉じこめる場合である。第3は、DnaK/Jなどで、変性したタンパク質をつかまえて、はなす、これだけを行う場合である。この特定領域研究で追究するのは（第1）ポリペプチド鎖を一方方向に引っ張る糸通しのメカニズム、（第2）変性タンパク質を狭い空洞に招き入れる仕組みとその中で折れたたみ方、（第3）結合と解離の制御、である。

2. 研究の進捗状況

（1）FtsHの膜外部分の結晶構造にもとづいて、サブユニットの間のトンネルを通してポリペプチドが活性中心にいたるという魅力的な仮説を導いた。

（2）GroEL/ESの既に確立されたと考えられた教科書モデルは大きな訂正が必要があることを見出した。ポリペプチドは空洞中のほとんどの時間を壁にくっついて過ごしているのである。そして、壁から離れるときわめて迅速にフォールディングを完成する。

（3）GroELはATP存在下でオープン型の構造をとってはじめてGroESを結合できるようになるが、オープン型構造を特異的に検出するクロスリンク方法を考案した。その結果、ATP存在下ではGroELの2つのリングがオープン型となり、ADPでは1つのリングだけがオープン型になることがわかった。いったん

オープン型になるとヌクレオチドがなくてもGroESが結合できる。

（4）DafAは、DnaK/Jに結合して3者複合体を作ることによってDnaK/Jの活性を抑制することを見出した。この複合体は、高温になると解離して、自由になったDnaK、DnaJが、GrpEと協力して分子シャペロンとしての機能を発揮し始める。

（5）ClpBは、不安定な6量体をリンカーで固定することに成功し、また、糸通しの検出法を開発した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している(②)。進捗状況の(1)と(2)はこの分野の革新に貢献している。

4. 今後の研究の推進方策

FtsHはさらに新しい結晶の解析をいそいでいる。また、変異による生化学解析を進める。GroEL/ESは、厚みのある研究をおこなって発表し、新しいモデルを世界に認めさせる。ClpBについては、より明確な生化学的な研究をおこなう。DnaK/J/DafAの結晶解析は進展していないので、これはしばらくあきらめる。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Nojima T, Yoshida M. Probing open conformation of GroEL rings by cross-linking reveals single and double open ring structures of GroEL in ADP and ATP. *J Biol Chem*. 2009 Aug 21;284(34):22834-9 査読あり

2. Watanabe YH, Nakazaki Y, Suno R, Yoshida

M. Stability of the two wings of the coiled-coil domain of ClpB chaperone is critical for its disaggregation activity. *Biochem J.* 2009 Jun 12;421(1):71-7 査読あり

3. Nojima T, Murayama S, Yoshida M, Motojima F. Determination of the Number of Active GroES Subunits in the Fused Heptamer GroES Required for Interactions with GroEL. *J. Biol. Chem.*, Jun 2008; 283: 18385 - 18392 査読あり

4. Ozaki Y, Suzuki T, Kuruma Y, Ueda T, Yoshida M. UncI protein can mediate ring-assembly of c-subunits of FoF1-ATP synthase in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Mar 14;367(3):663-6. 査読あり

〔学会発表〕 (計 10 件)

1. Miyazaki, Y., Motojima, F., Yoshida, M. Ribosome protein L2 is a client protein for E. coli HtpG 日本生化学会 82 回年会 2009. 10.22. 神戸

2. Motojima, F., Yoshida, M. The ATPase cycle of chaperonin gives another chance of the assisted folding to the escaped protein from the chaperonin cage. 日本生化学会 82 回年会 2009. 10.22. 神戸

3. Nakazaki, Y., Mizuno, S., Watanabe, K., Yoshida, M., Watanabe, Y. Analysis of substrate translocation activity of ClpB mutants. 日本生化学会 82 回年会 2009. 10.22. 神戸

4. Nojima, T., Yoshida, M. Functional analysis of flexibility of GroES mobile loop. 日本生化学会 82 回年会 2009. 10.22. 神戸