

平成22年4月28日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058008

研究課題名（和文） 小胞体におけるタンパク質品質管理機構

研究課題名（英文） Quality control mechanism of misfolded proteins in the ER

研究代表者

永田 和宏 (NAGATA KAZUHIRO)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：50127114

研究分野：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、品質管理、小胞体関連分解、レドックス制御、分子シャペロン

1. 研究計画の概要

本計画研究においては、主として小胞体およびサイトゾルにおけるタンパク質の品質管理機構を研究する。【1】小胞体関連分解における EDEM ファミリータンパク質の役割 小胞体においてミスフォールドしたタンパク質は、小胞体内から逆輸送チャンネルを介して、サイトゾルへ逆輸送され、小胞体関連分解 (ERAD) と呼ばれる機構により分解される。申請者は、この分解の鍵となる因子として EDEM および EDEM ファミリータンパク質を発見した。1) EDEM ファミリータンパク質の性質の解析、2) EDEM に関連し、ERAD を促進する他の因子の同定・探索と、それらが EDEM 経路のどこに位置するのかの解析を行う。【2】小胞体レドックス関連因子によるミスフォールドタンパク質の分解制御 小胞体においてはタンパク質はジスルフィド結合を介してフォールディング骨格を安定化するが、これには酸化酵素、イソメラーゼが関わっている。一方、ミスフォールドしたタンパク質がトランスロコンを通過するためには、ジスルフィド結合が還元され開裂していなければならない。ミスフォールドタンパク質の効率的な ERAD 促進のために、1) 小胞体におけるレドックスネットワークの解明、2) とりわけ小胞体還元酵素の同定とクローニング、3) それら還元酵素による基質タンパク質の凝集阻害、ジスルフィド結合の還元を通じてレトロトランスロケーションの促進について研究する。

2. 研究の進捗状況

EDEM に結合し、ミスフォールドした基質のジスルフィド結合を還元する酵素として

ERdj5 を発見、クローニングした。ERdj5 は EDEM および BiP と協働して ERAD を促進する。さらに ERdj5 の作用機構を明らかにするため、共同研究者の稲葉健次と共同して結晶構造解析を行い、2.4 Å の解像度で構造を解くことに成功した。生化学的解析とも併せ、ERdj5 には 6 個のチオレドキシシン様ドメインがあり、ERAD の促進には C 末端側の 2 つのチオレドキシシン様ドメインが関与していることを明らかにすることができた。

一方レドックスネットワーク解析においては、プロテオーム解析を行った結果、小胞体内の主要な酸化酵素 ERO1a と PDI が互いに機能を調節できる複合体を形成し、さらに他の小胞体オキシドレダクターゼをこの複合体として酸化していることを明らかにすることができた。小胞体オキシドレダクターゼの中には、この複合体の活性を負に調節する ERp72 が存在していることもこの研究から明らかになり、投稿準備中である。

これまでは主として糖タンパク質の ERAD について研究を進めてきたが、非糖タンパク質の ERAD は糖タンパク質とは別経路によって分解されることを明らかにし、これも投稿準備中である。

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

当初の目的に沿って順調に研究は進展し、期待以上の成果をあげていると考える。上記二つの成果は共に投稿中、および準備中である。

4. 今後の研究の推進方策

小胞体には多くのオキシドレダクターゼ

が存在し、productive folding および ERAD に重要な役割をもっている。しかし、それらの相互作用については、まだほとんどわかっていない。今後は小胞体膜に局在するオキシドレダクターゼや他の酵素をも視野に入れながら、小胞体レドックス制御の全体像を明らかにすべく、研究を展開する。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計22件)

①Y. Sugiura, K. Araki, I. S. Iemura, T. Natsume, J. Hoseki & K. Nagata : The novel thioredoxin-related transmembrane protein TMX4 has reductase activity. *J. Biol. Chem.* **285**(10):7135-7142 (2010)

②N. Hosokawa, Y. Kamiya, D. Kamiya, K. Kato & K. Nagata : Human OS-9, a lectin required for glycoprotein endoplasmic reticulum-associated degradation, recognizes mannose-trimmed N-Glycans. *J. Biol. Chem.* **284**(25):17061-17068 (2009)

③Y. Ishida, A. Yamamoto, A. Kitamura, S. R. Lamande, T. Yoshimori, F. B. John, H. Kubota & K. Nagata : Autophagic elimination of misfolded procollagen aggregates in the endoplasmic reticulum as a means of cell protection. *Mol. Biol. Cell.* **20**:2744-2754 (2009)

④R. Ushioda, J. Hoseki, K. Araki, G. Jansen, D. Y. Thomas & K. Nagata : ERdj5 is required as a disulfide reductase for degradation of misfolded proteins in the ER. *Science* **321**(5888):569-572 (2008)

⑤D. Morito, K. Hirao, F. Tokunaga, N. Hosokawa, D. M. Cyr, K. Tanaka, K. Iwai & K. Nagata : Gp78 cooperates with RMA1 in ER-associated degradation of CFTR Δ F508. *Mol. Biol. Cell.* **19**:1328-1336 (2008)

⑥S. Hirayama, Y. Yamazaki, A. Kitamura, Y. Oda, D. Morito, K. Okawa, H. Kimura, D. M. Cyr, H. Kubota & K. Nagata : MKKS is a centrosome-shuttling protein degraded by disease-causing mutations *via* CHIP-mediated ubiquitination. *Mol. Biol. Cell.* **19**:899-911 (2008)

⑦Inaba, K., Murakami, S., Nakagawa, A., Iida, H., Kinjo, M., Ito, K. and Suzuki, M. "Dynamic nature of disulfide bond formation catalysts revealed by crystal structures of DsbB" *EMBO J* **28**, 779-791 (2009)

⑧Inaba, K., Suzuki, M., Maegawa, K., Akiyama, S., Ito, K. and Akiyama, Y. "A pair of circularly permuted PDZ domains control RseP, the S2P family intramembrane protease of E. coli" *J. Biol. Chem.* **283**, 35042-35052 (2008)

[学会発表] (計58件)

①Kazuhiro Nagata : Quality control of misfolded proteins in the endoplasmic reticulum. 21th IUBMB International Congress and 12th FAOBMB Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai (China), 2009. 08. 05

②Kazuhiro Nagata, Yusaku Masago, Yoshihito Ishida : Revisiting of collagen-specific molecular chaperone HSP47: Alternative degradation pathway of misfolded procollagen in the ER: ERAD and autophagy. Cold Spring Harbor Meeting "Molecular Chaperones and stress Response", Cold Spring Harbor (USA), 2008. 05. 01

[図書] (計9件)

①永田和宏、塩田浩平 (編) : 医学のための細胞生物学、315ページ、南山堂 (2009)

②永田和宏、中野明彦、米田悦啓、須藤和夫、室伏擴、榎森康文、伊藤維昭 (訳) : ルーイン細胞生物学、681 ページ、東京化学同人 (2008)