

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058011

研究課題名（和文） ペルオキシソームの形成・制御と障害

研究課題名（英文） Peroxisome biogenesis, regulation, and human disorders

研究代表者

藤木 幸夫 (FUJIKI YUKIO)

九州大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号：70261237

研究代表者の専門分野：生化学・分子細胞生物学

科研費の分科・細目：

キーワード：ペルオキシソーム, CHO 変異細胞, ペルオキシソーム形成因子, ペルオキシソーム欠損症, 膜形成

### 1. 研究計画の概要

ペルオキシソーム形成機構の研究は、タンパク質の細胞内選別輸送、オルガネラ形成、生体膜形成など現代分子細胞生物学の課題の解明のみならず、形態形成・脳障害のメカニズム解明につながり医学領域への貢献も期待されている。高等動物ペルオキシソームの形成機構の研究は我々が世界に先駆けて開拓した領域であり、オリジナリティの高い成果を発信してきている。本研究課題は真核細胞におけるオルガネラ、すなわち膜系という巨大かつ複雑な構造体を研究対象としており、扱う現象は遺伝子発現に伴うタンパク質の生合成とその細胞内での移動という時間的にも、空間的にも極めてダイナミックな現象である。このため種々の分子遺伝学的アプローチと細胞生物学および生化学的アプローチを併用する。これらのアプローチ法に共通な前提として、ペルオキシソーム形成にかかわる因子 (*PEX* 遺伝子) を残らず同定しなければならない。一方、ペルオキシソーム形成異常症の全相補性群病因遺伝子の解明と並行して、現在までに同定・単離した 13 種の *PEX* 遺伝子 (産物) の細胞生化学機能に関しては、PTS1 受容体 *Pex5p* をはじめマトリックスタンパク質の輸送・移入に関わる 10 種のペルオキシシンとその機能の概要、*Pex19p* など膜形成に必須な 3 つのペルオキシシンと膜タンパク質輸送経路 (Class I および Class II 経路) を見出した。しかし、これらの分子機序や調節機構など全体像は明らかになっていない。従って、ペルオキシソームの形成と障害および機能発現制御を解明するため

のより詳細な分子基盤を導き出すこと、さらにはオルガネラ形成・形態制御過程においてペルオキシシン群がどのような時空間的遺伝子発現システムに基づいた分子動態調節システムを構築しているのかを解明することを本課題研究の目的とする。

### 2. 研究の進捗状況

(1) ペルオキシソームマトリックスタンパク質の輸送・局在化機構の解明

ペルオキシソーム移行シグナル 1 (PTS1) 受容体、*Pex5p* の膜状ドッキング因子 *Pex14p* の N-末側領域、*Pex14p*(25-70) の結晶構造解析に成功、3 個のヘリックスからなるドメイン構造を解明した。加えて、その単量体・2 量体間 (*Pex14p*-*Pex14p* および *Pex14p*-*Pex5p* すなわちホモおよびヘテロ 2 量体) 変換の分子形状を明らかにした。

(2) マトリックス PTS2-タンパク質の輸送機構: 局在化シグナル PTS2 タンパク質の PTS2 受容体 *Pex7p* を介したペルオキシソームへの無細胞輸送系の確立に成功、PTS1 受容体 *Pex5p* および *Pex7p* は ATP 非依存的にインポートされること、*Pex5p* と *Pex7p* は化学量論的にそれぞれ異なった様式でペルオキシソーム膜上タンパク質輸送装置複合体間を遷移することなどを明らかにした。

(3) ペルオキシソーム膜タンパク質の輸送と膜形成機構

膜形成因子 *Pex3p*、*Pex16p* および *Pex19p* が必須な膜形成機構に関し、Class I pathway: *Pex19p*-新規合成ペルオキシソーム膜タンパク質複合体の膜上の *Pex3p* への

輸送系；Class II pathway：Pex19p-新規合成 Pex3p 複合体の膜上 Pex16p への標的化を明らかにした。

(4) エーテルリン脂質プラスマローゲンの合成制御機構

プラスマローゲンの生合成の調節に関して、①ペルオキシソーム膜蛋白質である **fatty acyl-CoA reductase1(Far1)**が、プラスマローゲン合成に必須な長鎖アルコールの産生酵素である；②プラスマローゲンの生合成は、最終産物であるプラスマローゲンによって調節される；③この調節は、細胞内プラスマローゲン量依存的な **Far1** の安定性制御を介した活性調節によって達成されている、ことを見出した。これらの知見は、まったく新しい発見として高く評価されている (*J. Biol. Chem.* 誌に “Paper of the Week” として掲載された)。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

「タンパク質の社会」の一員であり、多くの代謝系を担い生命機能の必須なオルガネラであるペルオキシソームの形成・制御と障害の分子機構の解明を課題研究として取り組んでいる。ペルオキシソーム形成異常症の全相補性群病因遺伝子の解明への取り組みの成果として同定・単離した 13 種の *PEX* 遺伝子 (産物) の細胞生化学機能に関して、PTS1 受容体 Pex5p および PTS2 受容体 Pex7p を介したマトリックスタンパク質の輸送・移入に関わる 10 種のペルオキシシンとその機能の概要、Pex5p のペルオキシソーム-シトゾール間シャトリングの分子機構などを明らかにした。さらには、膜形成に必須な 3 つのペルオキシシンである Pex3p、Pex16p、および Pex19p のペルオキシソーム膜の形成過程における役割を解明した。すなわちペルオキシソーム膜タンパク質の生合成・輸送経路 (Class I および Class II) の発見である。このように、現在までの課題研究実施期間中に多くの重要な発見あるいはタンパク質輸送や膜アセンブリーの分子機構を解明するなど、本特定研究領域への貢献を含めて計画通り順調に進展している。

### 4. 今後の研究の推進方策

以下の項目を推進方策とする。

(1) 各 peroxin のオルガネラ形成過程における細胞生化学的機能に関し、構造生物学的アプローチを含め解明する。

(2) ペルオキシソームマトリックスおよび膜タンパク質の輸送に関し、輸送装置の単離と共に分子機構を解明する。

(3) ペルオキシソームのホメオスタシスのダイナミズムに関し包括的に解明する。

(4) *PEX* 遺伝子ノックアウトマウスによる病態モデル動物の作製とペルオキシソームの機能、とくに形態形成・脳-中枢神経形成過程における役割・重要性を細胞・個体レベルで解明する。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① Honsho, M., Asaoku, S., and Fujiki, Y.: Posttranslational regulation of fatty Acyl-CoA reductase 1, Far1, controls ether glycerophospholipid synthesis. *J. Biol. Chem.* **285**: 8537-8542 (2010) “Paper of the Week” 査読有
- ② Su, J.R., Takeda, K., Tamura, S., Fujiki, Y., and Miki, K.: Crystal structure of the conserved N-terminal domain of the peroxisomal matrix protein import receptor, Pex14p. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**: 417-421 (2009) 査読有
- ③ Matsuzaki, T., and Fujiki, Y.: The peroxisomal membrane-protein import receptor Pex3p is directly transported to peroxisomes by a novel Pex19p- and Pex16p-dependent pathway. *J. Cell Biol.* **183**: 1275-1286 (2008) 査読有
- ④ Hara-Kuge, S., and Fujiki, Y.: The peroxin Pex14p is involved in LC3-dependent degradation of mammalian peroxisomes. *Exp. Cell Res.* **314**: 3531-3541 (2008).

[学会発表] (計 9 6 件)

- ① Yukio Fujiki: Peroxisomal import of matrix and membrane proteins. “Gordon Research Conferences: Protein transport across cell membranes” March 7-12, 2010, Galveston, USA.
- ② Yukio Fujiki: Peroxisome biosynthesis and its regulation: membrane assembly, matrix protein import, and morphogenesis. “International Meeting on Peroxisome Research” November 18-20, 2009, Seattle, USA.

[図書] (計 2 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件) ○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~taisha/>