

平成 22 年 5 月 8 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19058012

研究課題名（和文）AAA シャペロン群のタンパク質構造変換機構と品質管理機構の研究

研究課題名（英文）Mechanisms of remodeling and quality control of proteins by AAA chaperones

研究代表者

小椋 光 (OGURA TERU)

熊本大学・発生医学研究所・教授

研究者番号：00158825

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：AAA タンパク質、分子シャペロン、微小管、高速原子間力顕微鏡、ATPase、線虫

1. 研究計画の概要

AAA ファミリータンパク質は、基質タンパク質の unfolding、タンパク質複合体の disassembly や凝集体の disaggregation などタンパク質の立体構造をエネルギー依存的にダイナミックに変換する 6 量体リング構造のシャペロンで、様々な細胞機能に関わる。AAA タンパク質に起因するヒト遺伝性疾患が相次いで報告され、医学的観点からも注目されている。AAA シャペロンの分子機構について、共通のエンジン AAA ATPase の分子基盤に立脚し、異なる AAA タンパク質を比較解析して、様々な機能を支える作動原理を明らかにする。特に、まだ不明な点が多い unfolding/disassembly/disaggregation の詳細な分子機構に焦点を当てる。また、線虫をモデル系として、AAA シャペロンによる品質管理機構を解析し、その破綻に起因する疾患モデルを作製し、それらの病態を解析し、予防・治療戦略の確立に寄与する。

2. 研究の進捗状況

AAA シャペロン群の分子機構について解析し、以下の知見を得た。線虫の p97 が、タンパク質の凝集体形成を ATP 非依存的に抑制することを明らかにした。同様に、大腸菌の ClpX が細胞分裂に必須の FtsZ タンパク質に直接相互作用して、その線維形成を抑制することを明らかにし、FtsZ 線維のダイナミクスを高速原子間力顕微鏡で観察した。線虫の spastin ホモログ SPAS-1 およびヒト katanin について微小管への作用を解析し、いずれにおいても保存された芳香族残基が微小管切断活性に重要であることを明らかにした。SPAS-1 については、ポア周辺の塩

基性アミノ酸残基の重要性についても明らかにした。さらに、微小管結合ドメインが構造をもたない領域であることを明らかにし、これらの結果を総合して spastin の微小管切断モデルを提唱した。興味深いことに、2つの ATPase ドメインをもつ p97 の N 末端側のドメイン (D1) のポアには芳香族残基が保存されておらず、芳香族残基への変異は相補活性を失った。ATP 加水分解のほとんどは D2 により、D2 ドメインのサブユニット間での正の協同性が p97 の機能に重要であることを明らかにした。ミトコンドリア膜結合型 AAA シャペロン Bcs1p は、ポアモチーフが他の AAA タンパク質とは異なる部位に存在し、複合体 III のサブユニット Cor1p と Qcr2p と相互作用することを明らかにした。一方、AAA シャペロンの細胞機能については、線虫の p97 の細胞機能と発生における役割を解析し、減数第 1 分裂の進行・染色体の凝縮、小胞体関連分解および性決定における役割を明らかにした。また、これらの細胞機能におけるアダプタータンパク質やユビキチンリガーゼの役割も明らかにした。さらに、線虫の fidgetin ホモログ FIGL-1 が生殖腺の形成に必須であること、SUMO と相互作用することを明らかにした。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

期待以上に進展している点やまだやや成果の上がない点があるが、全体としては順調に進展している。p97 や spastin の系は予定した計画をほぼ達成している。Fidgetin や Bcs1p などについては当初予想

しなかった展開があり、さらなる進展が期待できる。一方で、p97 や Hsp104 の脱凝集活性の検討が難航している。

4. 今後の研究の推進方策

残りの研究期間については、タンパク質の社会システムの全体像の理解に最も貢献すると考えられる3つのAAAシャペロン、p97、fidgetin、および Bcs1p に注目し、これらの細胞機能と分子機構について明らかにする。この3つのAAAシャペロンに着目する理由は、それぞれサイトゾル、核、ミトコンドリアと局在が異なること、それぞれ多数の基質タンパク質に作用するが、その基質認識機構が異なること、いずれもヒト疾患に関連すること、などである。これらのAAAシャペロンの機能は、タンパク質の「品質管理」と「包括的制御」と「複合体形成」という、いずれも本特定領域「タンパク質の社会」で解明すべき課題である。

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15件)

1. Sugimoto, S., Yamanaka, K., Nishikori, S., Miyagi, A., Ando, T., and Ogura, T. AAA⁺ chaperone ClpX regulates dynamics of prokaryotic cytoskeletal protein FtsZ. *J. Biol. Chem.* 285, 6648-6657, 2010. 査読有.
2. Sasagawa, Y., Otani, M., Higashitani, N., Higashitani, A., Sato, K., Ogura, T., and Yamanaka, K. *Caenorhabditis elegans* p97 controls germline-specific sex determination by controlling TRA-1 level in a CUL-2-dependent manner. *J. Cell Sci.* 122, 3663-3672, 2009. 査読有.
3. Matsushita-Ishiodori, Y., Yamanaka, K., Hashimoto, H., Esaki, M., and Ogura, T. Conserved aromatic and basic amino acid residues in the pore region of *C. elegans* spastin play critical roles in microtubule-severing. *Genes Cells* 14, 925-940, 2009. 査読有.
4. Nishikori, S., Yamanaka, K., Sakurai, T., Esaki, M. and Ogura, T. p97 homologs from *C. elegans*, CDC-48.1 and CDC-48.2, suppress the aggregate formation of huntingtin exon1 containing expanded polyQ repeat. *Genes Cells* 13, 827-838, 2008.

査読有.

5. Sasagawa, Y., Yamanaka, K. and Ogura, T. ER E3 ubiquitin ligase HRD-1 and its specific partner chaperone BiP play important roles in ERAD and developmental growth in *C. elegans*. *Genes Cells* 12, 1063-1073, 2007. 査読有.

[学会発表](計33件)

[図書](計3件)

[その他]

ホームページ

1. http://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/divisions/molecular_cell_biology/
2. <http://mukb.medic.kumamoto-u.ac.jp/fukusei/index.html>
3. <http://mukb.medic.kumamoto-u.ac.jp/AAA/aainfo.html>