

令和 元年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2016～2018

課題番号：15KK0258

研究課題名（和文）化学量不均衡を避けるメカニズムの解明（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Analysis of mechanisms avoiding stoichiometry imbalance(Fostering Joint International Research)

研究代表者

守屋 央朗 (Moriya, Hisao)

岡山大学・異分野融合先端研究コア・准教授

研究者番号：60500808

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,100,000円

渡航期間： 6ヶ月

研究成果の概要（和文）：細胞内のタンパク質の発現量は精密に調整されていることが知られている。この量が乱れると時として細胞の機能に害をおよぼすが、そのメカニズムについてはほとんどわかっていない。本研究では、量の乱れの中でも過剰発現が引き起こす害について、国際共同研究による大規模な遺伝子探索により明らかにすることを旨とした。その結果、過剰発現による増殖阻害を亢進したり回避したりする一群の変異体を取得することができた。さらに過剰発現が特殊な条件で増殖に有利になるような遺伝子を体系的に取得する手法の確立も行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は「細胞内にあるタンパク質の存在量はどのような制約によって決まっているか？」という問いに迫るものであり、生命の基本的構成原理の解明を目指している。本研究の成果によりタンパク質の発現量の制約を知る手がかりとなる一群の変異体を得ることが出来た。

タンパク質の過剰は癌や神経変性疾患などで散見される特徴である。本研究の成果はこれらの病態を理解する手助けとなるだろう。また、細胞工学では有用タンパク質の大量生産が求められる。本研究の成果は細胞の増殖阻害を避けながら有用タンパク質を大量生産する技術の基礎となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：It is known that expression levels of intracellular proteins are highly regulated. Disturbance of those levels, by overexpression, sometimes cause defects in cellular functions. However, little is known about the mechanisms. In this study, we tried to reveal mechanisms of overexpression-triggered cellular defects with large-scale genetic profilings performed in international collaborations. As a result, we obtained groups of genes exacerbate and mitigates the growth defects. We also established an experimental method to isolate genes whose overexpression positively function for cellular growth in specific conditions.

研究分野：システムゲノム科学

キーワード：細胞 過剰発現 化学量不均衡

## 様式 F - 19 - 2

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内の各タンパク質は、細胞機能にとって適切な発現量があり、この量を逸脱して発現が変動すると細胞機能に悪影響をおよぼすことがある。一方、細胞には発現量の乱れを感知して、最終的なタンパク質量を整える緩衝機構が存在することもわかってきた。研究代表者はこれまでに、出芽酵母をモデル真核細胞として、わずかな過剰発現により増殖を阻害するような一群の遺伝子・タンパク質を同定すると共に、発現量の乱れをタンパク質分解の加速により緩衝するメカニズムを発見してきた。しかし、過剰発現による増殖阻害や発現の乱れを緩衝するメカニズムについては不明な点が多かった。このメカニズムの解析には、大規模並列顕微鏡システム、自動遺伝子間相互作用測定システム、大規模塩基配列決定システムなどのハイスループットシステムが有用である。

### 2. 研究の目的

代表者は、出芽酵母を対象として上記のハイスループットシステムを運用しているトロント大学とハイデルベルク大学にそれぞれ滞り、実験技術の習得、データ取得、新規実験系の構築を目指した。

### 3. 研究の方法

(1) 酵母細胞内で過剰発現しているタンパク質の量を大規模並列顕微鏡で測定し、画像解析を行うことで過剰発現している細胞が緩衝を受けているかどうかを体系的に調査した。また、過剰発現により増殖阻害を引き起こすタンパク質が、細胞内の輸送装置の構造に影響をあたえるかを同様に調査した。

(2) 自動遺伝子間相互作用測定システムを用いて、タンパク質の過剰発現による増殖阻害をより悪化させたり、緩和させたりする変異体をシステムティックに解析した。

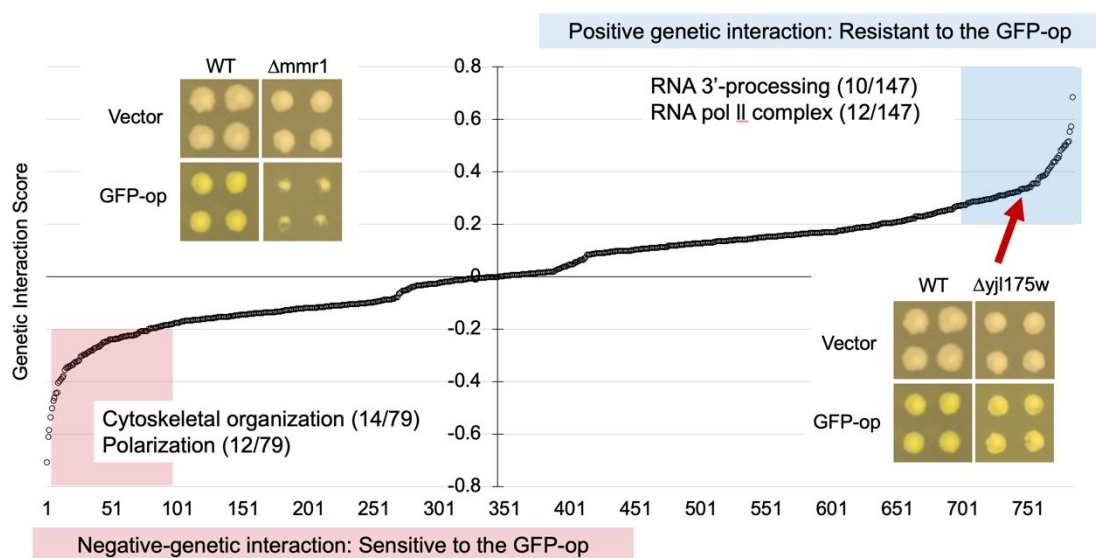
(3) 過剰発現が増殖阻害を起こしたり、特定の環境で有利に働いたりする遺伝子をハイスループットに探索する実験系を構築した。

### 4. 研究成果

(1) 大規模並列顕微鏡の測定画像からタンパク質の発現量や輸送装置の構造異常を自動的に抽出する計算アルゴリズムを、機械学習を組み合わせることで作成できた。その結果、輸送装置に異常を引き起こす一群のタンパク質を同定することができた。現在さらに解析を進めている。

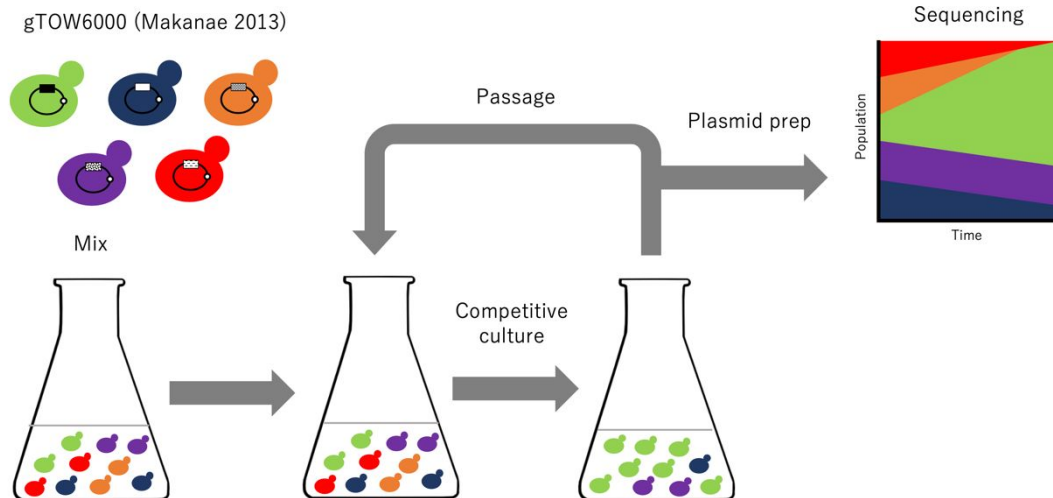
(2) タンパク質の過剰発現による増殖阻害を悪化させたり、緩和されたりする変異体を多数同定した(図1)。この変異体の解析から、タンパク質の過剰が引き起こす増殖阻害のメカニズムが複数提案された。この内容で論文投稿準備中である。

図1. 本研究で同定された、過剰発現による増殖阻害と相互作用をもつ遺伝子



(3) 過剰発現が増殖阻害を起こしたり、特定の環境で有利に働いたりする遺伝子を、競合培養と大規模塩基配列決定により体系的・迅速に取得する新しい実験系の構築に成功した(図2)。現在、この実験系の改良を国内の代表者の研究室で行っている。

図2. 本研究で構築した過剰発現による影響をハイスループットに探索する実験系



5. 主な発表論文等  
(研究代表者は下線)

[雑誌論文](計5件)すべて査読あり

Eguchi Y, Makanae K, Hasunuma T, Ishibashi Y, Kito K, Moriya H., Estimating the protein burden limit of yeast cells by measuring the expression limits of glycolytic proteins., *Elife*. 2018 Aug 10;7. pii: e34595.

Scharff-Poulsen P, Moriya H., Johnston M., Genetic Analysis of Signal Generation by the Rgt2 Glucose Sensor of ., *G3 (Bethesda)*. 2018 Jul 31;8(8):2685-2696.

Miura T, Moriya H., Iwai S., Assessing phagotrophy in the mixotrophic ciliate *Paramecium bursaria* using GFP-expressing yeast cells., *FEMS Microbiol Lett*. 2017 Jul 03;364(12).

Ishikawa K, Makanae K, Iwasaki S, Ingolia NT, Moriya H., Post-Translational Dosage Compensation Buffers Genetic Perturbations to Stoichiometry of Protein Complexes., *PLoS Genet*. 2017 Jan 25;13(1):e1006554.

Kintaka R, Makanae K, Moriya H., Cellular growth defects triggered by an overload of protein localization processes., *Sci Rep*. 2016;6:31774.

[学会発表] 国際会議のみ記載 (計7件)

Yuichi Eguchi, Hisao Moriya, Defining harmful yeast proteins by measuring overexpression limits, *Yeast Genetics Meeting*, 2018

Hisao Moriya, Consequences of Protein Overexpression: Approaches by the Genetic Tug-of-war Method, *CIFAR Genetic Networks Program Meeting*, 2017

Koji Ishikawa, Hisao Moriya, Multiple E3 ubiquitin ligases and N-terminal acetyltransferases are involved in protein-level dosage compensation that controls stoichiometry of protein complexes, *The 42nd FEBS Congress, From Molecules to Cells and Back*, 2017

Hisao Moriya, Reiko Kintaka, Charles Boone, Koji Ishikawa, Yuichi Eguchi, Consequences of protein overexpression *14th International Congress on Yeasts*, 2016

Yuichi Eguchi, Koji Makanae, Yoshimi Hori, Tomohisa Hasunuma, Hisao Moriya, Expression limits of glycolytic enzymes in yeast, *14th International Congress on Yeasts*, 2016

Reiko Kintaka, Koji Makanae, Hisao Moriya, Overloads of protein localization process cause cellular growth defects, *14th International Congress on Yeasts*, 2016

Hisao Moriya, Consequences of protein overexpression, *The 26th Hot Spring Harbor International Symposium*, 2016

[図書](計 件)  
該当なし

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

<https://tenure5.vbl.okayama-u.ac.jp/HMIlab/>

## 6. 研究組織

### 研究協力者

〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

研究協力者氏名：Charles Boone

所属研究機関名：University of Toronto

部局名：Donnelly Centre for Cellular and Biomolecular Research

職名：Professor

研究協力者氏名：Michael Knop

所属研究機関名：University of Heidelberg

部局名：ZMBH

職名：Professor

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。