

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03978

研究課題名(和文) 亜鉛イオンとERp44の連携による分泌経路の新たなタンパク質品質管理機構

研究課題名(英文) Novel mechanisms of protein quality control mediated by the cooperation of ERp44 and zinc ions in the early secretory pathway

研究代表者

稲葉 謙次 (Inaba, Kenji)

東北大学・多元物質科学研究所・教授

研究者番号：10423039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,500,000円

研究成果の概要(和文)：初期分泌経路のタンパク質品質管理において重要な役割を担うERp44が、亜鉛イオン依存的に構造、基質に対する親和性、細胞内局在の制御を受け、機能を発揮することを発見した。さらに、目的のオルガネラにターゲティングされる亜鉛蛍光プローブを水上進教授のグループと共同で開発し、ゴルジ体における亜鉛濃度の定量に成功した。また、系統的ノックダウン実験により、初期分泌経路に存在する亜鉛トランスポーターのうち、主としてZnT7がERp44の細胞内局在と機能を制御することを明らかにした。以上の研究により、初期分泌経路における亜鉛恒常性維持機構と、ERp44を介した新たなタンパク質品質管理機構の全容を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞のタンパク質品質管理機構の異常は、アルツハイマー病などの神経変性疾患や糖尿病を引き起こすことが数多く報告されている。また亜鉛イオンの恒常性維持の破綻が、発育障害、免疫低下、皮膚病等のいわゆる亜鉛欠乏症を引き起こすことも広く知られる。本研究において我々は、小胞体とゴルジ体における、亜鉛イオンとpHによって制御される全く新しいタンパク質品質管理機構を解明した。さらに細胞内小器官の遊離亜鉛イオン濃度を定量することにも成功し、細胞の亜鉛恒常性維持機構に関する重要な知見を得た。本研究成果は上記の疾患の原因解明・創薬につながり、基礎細胞生物学のみならず、医学的にも非常に重要なものである。

研究成果の概要(英文)：ERp44 is a PDI family member that plays an important role in protein quality control in the early secretory pathway. We recently discovered that zinc ions (Zn^{2+}) regulate structure, affinity for client proteins and intracellular localization of ERp44, leading to its maximal client retention activity. We also developed an organelle-targetable Zn^{2+} fluorescent probe in collaboration with Prof. Shin Mizukami's group, and succeeded in quantification of labile Zn^{2+} concentration in the Golgi with the probe. By Zn^{2+} imaging under the conditions of systematic Zn^{2+} transporter (ZnT) knockdowns, we revealed that ZnT7 serves as a ZnT that primarily regulates intracellular localization and function of ERp44. Thus, we established molecular and mechanistic basis of the ZnT-mediated Zn^{2+} homeostasis and ERp44-dependent protein quality control in the early secretory pathway.

研究分野：構造生物学

キーワード：タンパク質品質管理 亜鉛イオン 亜鉛輸送体 ERp44 小胞体 ゴルジ体 X線結晶構造解析 細胞イメージング

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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小胞体とゴルジ体から成る初期分泌経路には厳正なタンパク質品質管理機構が存在する。その中で ERp44 は、構造未成熟な分泌タンパク質や小胞体局在酵素をゴルジ体から小胞体へ逆行輸送することで分泌経路におけるタンパク質品質管理に寄与することが過去に報告された (Anelli et al., *EMBO J* 2003, 2007)。2013 年に我々は、イタリアの Roberto Sitia 教授のグループと共同で、小胞体—ゴルジ体間の pH 勾配が ERp44 の機能発現制御において重要であることを突き止めた (Vavassori, Masui et al., *Mol. Cell*, 2013)。さらに我々は ERp44 の高分解能結晶構造解析に成功し (Watanabe et al., *PNAS* 2017)、ERp44 分子中に金属イオンと結合し得るヒスチジン残基の集中領域 (His クラスターと命名) が存在することを見つけた。そこで、ERp44 と金属イオンとの結合を等温滴定量計により網羅的に解析したところ、ERp44 が亜鉛イオンと特異的に結合することを発見した。さらに ERp44 は、ゴルジ体で亜鉛イオンと結合することで、立体構造、細胞内局在、クライアント逆行輸送活性を制御することも見出した。しかしながら、本事象に関する分子機構の詳細はほとんど未解明であった。また ERp44 がどのような仕組みで、ゴルジ体で亜鉛イオンを獲得するのか、重要な問題として残されていた。

2. 研究の目的

亜鉛イオン依存的な ERp44 の機能制御に関し、以下の重要な問題が未解明のまま残されている。

- (1) ERp44 のどの領域に亜鉛イオンが結合し、それによりどのような構造変化を受けるのか。
- (2) 分泌経路における遊離亜鉛の濃度は、ERp44 の亜鉛イオンに対する親和性と比して、どれくらいなのか。
- (3) 分泌経路に存在する複数の亜鉛トランスポーターの中で、どの亜鉛トランスポーターが小胞体およびゴルジ体の亜鉛恒常性維持に関与し、また ERp44 に亜鉛イオンを与え、それによって ERp44 の構造機能制御に寄与するのか。

上記 (1)~(3) の問題を解明するため、構造生物学的手法、細胞イメージング、遺伝子ノックダウン等の手法を組み合わせ、研究を進めた。

3. 研究の方法

- (1) ERp44 の亜鉛イオン依存的な構造変化を解析するため、亜鉛イオン存在下で ERp44 を結晶化し、さらに亜鉛原子の異常分散ピークを位相決定のために利用し、亜鉛イオン結合型 ERp44 の結晶構造を決定した。さらに、亜鉛結合に伴う ERp44 の会合状態の変化をゲル濾過クロマトグラフィーにより解析した。
- (2) 小胞体、ERGIC、cis-Golgi, medial-Golgi, trans-Golgi における遊離の亜鉛イオン濃度を決定するため、東北大学・水上進教授のグループで開発されたオルガネラターゲット型亜鉛蛍光プローブ ZnDA-1H を使い、亜鉛イオンの細胞イメージングを行った。ZnDA-1H は分子内に halo-ligand を有しており、各サブオルガネラに局在することが知られるタンパク質に Halo-tag を融合させ、その融合タンパク質を細胞内で発現させることで、本プローブを目的のサブオルガネラにターゲットさせた。また内部標準として Halo-TMR を使い、Halo-TMR と ZnDa-1H を一定の混合比で細胞に投与し、それぞれの蛍光強度を観測することで、各サブオルガネラにおける亜鉛イオン濃度を算出した。
- (3) 各亜鉛トランスポーターのサブオルガネラにおける亜鉛恒常性維持に対する寄与を調べるため、それら亜鉛トランスポーターを系統的にノックダウンした条件における亜鉛イオン濃度を上記の方法で解析した。さらに、各亜鉛トランスポーターノックダウン条件下における ERp44 の局在、クライアント分泌抑制活性についても詳細に解析した。さらに、ZnT7 および ZnT6 の細胞内局在に関する知見を得るため、超解像顕微鏡によるそれら亜鉛輸送体の観察を行った。

4. 研究成果

(1) 亜鉛イオン結合型 ERp44 を調製し、幅広い結晶化スクリーニングを行った結果、1.0 M Na Malonate, 90 mM HEPES-NaOH pH7.0, 0.45% Jeffamine ED-2001, 0.5-2.0 mM ZnCl₂ の条件で良質の結晶が得られた。この結晶について、SPRing-8, BL44-XU で回折実験を行ったところ、2.45Å 分解能の回折データ収集に成功した。回折データを解析することにより、亜鉛結合型 ERp44 の二量体構造が決定された。亜鉛イオン依存的な ERp44 の二量体形成は、ゲル濾過クロマトグラフィーによっても確認した。結晶構造解析の結果、亜鉛イオンは ERp44 の C 末端テールの根元に存在する His cluster に結合し、それによって C 末端テールが大きく開き、クライアント結合のための分子表面が露出することが示された(右図参照)。さらに等温滴定量計により、ERp44 のクライアントに対する親和性が、亜鉛イオン依存的に亢進することを突き止めた。本成果は Nature Communications 10:603 s41467 (2019) に報告した。

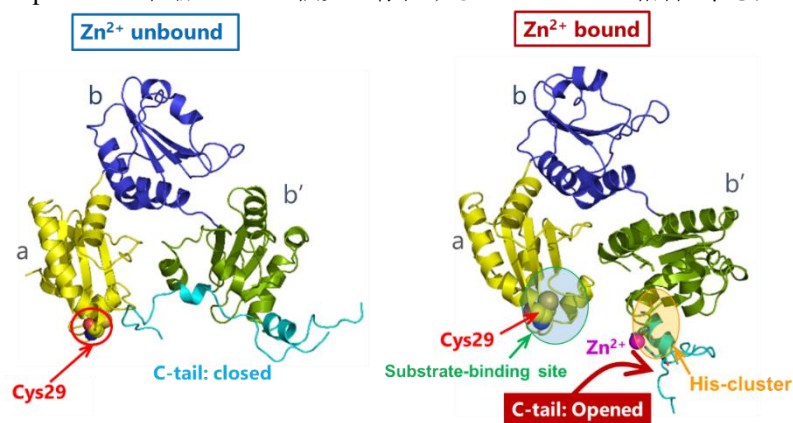


図 亜鉛非結合型(左)と亜鉛結合型の ERp44 の結晶構造の比較

(2) 小胞体、ERGIC、cis-, medial-, trans-Golgi の各サブオルガネラに ZnDA-1H プローブをターゲティングするため、Halo-tag を STIM1, ERGIC-53, Manosidase II, TPST2, GalT に融合させたタンパク質を発現するためのプラスミドを構築し、細胞中でそれぞれを発現させた。亜鉛イオンの絶対濃定量を行うため、Halo-TMR を内部標準として、ZnDA-1H と一定の混合比で細胞に加え、それぞれの蛍光強度を観測した。その結果を計算式にあてはめることにより、各サブオルガネラにおける遊離の亜鉛濃度を測定した。その結果、小胞体では ZnDA-1H の検出限度濃度以下であったのに対し(nM オーダー)、ERGIC では約 100 nM、cis-, medial-, trans-Golgi ではいずれも約 75 nM の遊離亜鉛濃度であることが判明した。この値は ERp44 の亜鉛イオンに対する解離定数に匹敵し、ERp44 の構造機能が細胞内で亜鉛イオンによって可逆的に制御されることを説明するものであった。

(3) ゴルジ体に存在する亜鉛輸送体 ZnT4, 5/6, 7 をそれぞれノックダウンした条件において、ERGIC, cis-, medial-, trans-Golgi における遊離亜鉛イオン濃度を上記と同様の手法で見積もった。その結果、ZnT7 のノックダウンにより、ERGIC における亜鉛イオン濃度は大きく減少したのに対し、cis-, medial-, trans-Golgi における亜鉛イオン濃度に大きな変化はなかった。一方、ZnT4, ZnT5/6 をノックダウンした条件では、medial-, trans-Golgi における亜鉛イオン濃度が有意に減少したのに対し、ERGIC, cis-Golgi における亜鉛イオン濃度に変化はみられなかった。以上の結果から、ZnT7 が ERGIC への亜鉛イオン輸送を行うのに対し、ZnT4, 5/6, 7 は ER から離れた distal 側のゴルジ体への亜鉛輸送に関与することが強く示唆された。以上の結果は、超解像顕微鏡による ZnT7 および ZnT6 の局在観察の結果と合致していた。さらに、ZnT4, 5/6, 7 をそれぞれノックダウンした条件において ERp44 の局在を観察した結果、ZnT7 ノックダウンにより ERp44 の局在がゴルジ体へと顕著に偏ったのに対し、ZnT4, ZnT5/6 のノックダウンでは、ERp44 の局在に大きな変化はなかった。一方、ERp44 のクライアントである Ero1a や Prx4 の細胞外分泌を各亜鉛輸送体ノックダウン条件下で観察したところ、ZnT5/6 のノックダウン条件において、これらクライアントタンパク質の分泌の増大が観測された。すなわち ERp44 の小胞体を含む広範囲の分布には ZnT7 が取り込んだ亜鉛イオンが関与し、ERp44 のクライアント細胞内滞留活性には、ZnT5/6 により取り込まれた亜鉛イオンが重要であることを示唆する結果が得られた。現在、(2) と (3) の結果を統合し、論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Zhang, Y., Inoue, M., Tsutsumi, A., Watanabe, S., Nishizawa, T., Nagata, K., Kikkawa, M. and Inaba, K.*	4. 巻 6
2. 論文標題 Cryo-EM structures of SERCA2b reveal the mechanism of regulation by the luminal extension tail	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabb0147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abb0147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kowada, T., Watanabe, T., Amagai, Y., Liu, R., Yamada, M., Takahashi, H., Matsui, T., Inaba, K. and Matsui, T.	4. 巻 27
2. 論文標題 Quantitative imaging of labile Zn ²⁺ in the Golgi apparatus using a localizable small-molecule fluorescent probe	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 1521-1531
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.chembiol.2020.09.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kanemura, S., Sofia, F. E., Hirai, N., Okumura, M., Kadokura, H. and Inaba, K.*	4. 巻 295
2. 論文標題 Characterization of the ER-resident peroxidases GPx7 and GPx8 shows the higher oxidative activity of GPx7 and its linkage to oxidative protein folding	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 12772-12785
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA120.013607	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kadokura, H., Dazai, Y., Fukuda, Y., Hirai, N., Nakamura, O., and Inaba, K.	4. 巻 117
2. 論文標題 Observing the nonvectorial yet cotranslational folding of a multidomain protein, LDL receptor, in the ER of mammalian cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A.	6. 最初と最後の頁 16401-16408
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2004606117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ninagawa, S., Tada, S., Okumura, M., Inoguchi, K., Kinoshita, M., Kanemura, S., Imami, K., Umezawa, H., Ishikawa, T., Mackin, R., Torii, S., Ishihama, Y., Inaba, K., Anazawa, T., Nagamine, T. and Mori, K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Antipsychotic olanzapine-induced misfolding of proinsulin in the endoplasmic reticulum accounts for atypical development of diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e60970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.60970	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanemura, S., Matsusaki, M., Inaba, K. and Okumura, M.	4. 巻 21
2. 論文標題 PDI family members as guides for client folding and assembly	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 E9351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21249351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okumura, M., Noi, K. and Inaba, K.*	4. 巻 66
2. 論文標題 Visualization of structural dynamics of protein disulfide isomerase enzymes in catalysis of oxidative folding and reductive unfolding	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Curr. Opin. Struct. Biol.	6. 最初と最後の頁 49-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbi.2020.10.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirayama, C., Machida, K., Noi, K., Murakawa, T., Okumura, M., Ogura, T., Imataka, H., and Inaba, K.*	4. 巻 4
2. 論文標題 Distinct roles and actions of protein disulfide isomerase family enzymes in catalysis of nascent-chain disulfide bond formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okumura, M., Kanemura, S., Matsusaki, M., Kinoshita, M., Saio, T., Ito, D., Hirayama, C., Kumeta, H., Watabe, M., Amagai, Y., Lee, Y.-H., Akiyama, S., and Inaba, K.*	4. 巻 in press
2. 論文標題 A unique leucine-valine adhesive motif supports structure and function of protein disulfide isomerase P5 via dimerization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 S0969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2021.03.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Michio, Sakuta Nanami, Watanabe Satoshi, Zhang Yuxia, Yoshikaie Kunihiro, Tanaka Yoshiki, Ushioda Ryo, Kato Yukinari, Takagi Junichi, Tsukazaki Tomoya, Nagata Kazuhiro, Inaba Kenji	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural Basis of Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2b Regulation via Transmembrane Helix Interplay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1221 ~ 1230.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.03.106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Yuki, Lin Ying-Chen, Watanabe Satoshi, Liu Yu-chi, Katsuyama Kentaro, Kanehara Kazue, Inaba Kenji	4. 巻 21
2. 論文標題 High-Resolution Crystal Structure of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T Illuminates Its Phospholipid-Binding Site in Flowering	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 577 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.10.045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Okumura Masaki, Noi Kentaro, Kanemura Shingo, Kinoshita Misaki, Saio Tomohide, Inoue Yuichi, Hikima Takaaki, Akiyama Shuji, Ogura Teru, Inaba Kenji	4. 巻 15
2. 論文標題 Dynamic assembly of protein disulfide isomerase in catalysis of oxidative folding	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 499 ~ 509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-019-0268-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsusaki Motonori, Kanemura Shingo, Kinoshita Misaki, Lee Young-Ho, Inaba Kenji, Okumura Masaki	4. 巻 1864
2. 論文標題 The Protein Disulfide Isomerase Family: from proteostasis to pathogenesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129338 ~ 129338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada Shunsuke, Matsusaki Motonori, Arai Kenta, Hidaka Yuji, Inaba Kenji, Okumura Masaki, Muraoka Takahiro	4. 巻 55
2. 論文標題 Coupling effects of thiol and urea-type groups for promotion of oxidative protein folding	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 759 ~ 762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc08657e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okumura, M., Noi, K., Kanemura, M., Kinoshita, M., Saio, T., Inoue, Y., Hikima, T., Akiyama, S., Ogura, T. and Inaba, K.	4. 巻 15
2. 論文標題 Dynamic assembly of protein disulfide isomerase in catalysis of oxidative folding	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 499-509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-019-0268-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe S., Amagai Y., Sannino S., Tempio T., Anelli T., Harayama M., Masui S., Sorrentino I., Yamada M., Sitia R, and Inaba K	4. 巻 10
2. 論文標題 Zinc regulates ERp44-dependent protein quality control in the early secretory pathway.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-08429-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Okada, S., Matsusaki, M., Araki, K., Hidaka, Y., Inaba, K., Okumura, M., and Muraoka, T.	4. 巻 55
2. 論文標題 Coupling effects of thiol and urea-type groups for promotion of oxidative protein folding	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 759-762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc08657e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Takushi, Inaba Kenji, Kadokura Hiroshi	4. 巻 28
2. 論文標題 Methods to identify the substrates of thiol disulfide oxidoreductases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Protein Science	6. 最初と最後の頁 30-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.3530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujimoto Takushi, Nakamura Oriie, Saito Michiko, Tsuru Akio, Matsumoto Masaki, Kohno Kenji, Inaba Kenji, Kadokura Hiroshi	4. 巻 293
2. 論文標題 Identification of the physiological substrates of PDIp, a pancreas-specific protein-disulfide isomerase family member	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 18421 ~ 18433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.003694	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 O'Brien Henrik, Kanemura Shingo, Okumura Masaki, Baskin Robert, Bandyopadhyay Pradip, Olivera Baldomero, Ellgaard Lars, Inaba Kenji, Safavi-Hemami Helena	4. 巻 19
2. 論文標題 Ero1-Mediated Reoxidation of Protein Disulfide Isomerase Accelerates the Folding of Cone Snail Toxins	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3418 ~ 3418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19113418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Arai, K., Takei, T., Shinozaki, R., Noguchi, M., Fujisawa, S., Katayama, H., Moroder, M., Ando, S., Okumura, M., Inaba, K., Hojo, H. and Iwaoka, M.	4. 巻 1
2. 論文標題 Characterization and optimization of two-chain folding pathways of insulin via native chain assembly	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communications Chemistry	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42004-018-0024-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsusaki, M., Kanemura, S., Kinoshita, M., Lee, Y.H., Inaba, K.* and Okumura, M.	4. 巻 165
2. 論文標題 The protein disulfide isomerase family: from proteostasis to pathogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Acta. General Subject	6. 最初と最後の頁 30080-30087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue, M., Sakuta, N., Watanabe, S., Zhang, Y., Yoshikaie, K., Tanaka, Y., Ushioda, R., Kato, Y., Takagi, J., Tsukazaki, T., Nagata, K. and Inaba, K.	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural basis of sarco/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2b regulation via transmembrane helix interplay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1221-1230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.03.106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計53件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 18件)

1. 発表者名 稲葉 謙次
2. 発表標題 クライオ電子顕微鏡単粒子解析が明らかにする小胞体カルシウムポンプSERCA2bの構造機能制御機構
3. 学会等名 東北大 理研連携シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 天貝佑太, 山田桃, 小和田俊行, 渡邊朝美, 檜本悟史, 渡部聡, 経塚淳子, 水上進, Roberto Sitia, 稲葉謙次
2. 発表標題 亜鉛輸送体によるゴルジ体の亜鉛制御が ERp44機能を調節する
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Watanabe, Yuta Amagai, Sara Sannino, Amiko Miyake, Roberto Sitia, and Kenji Inaba
2. 発表標題 A new role of cellular zinc for protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 第20回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shingo Kanemura, Elza Firdiani Sofia, Naoya Hirai, Masaki Okumura, Hiroshi Kadokura and Kenji Inaba
2. 発表標題 Biochemical characterizations of ER-resident peroxidases, GPx7andGPx8, reveal their distinct oxidative activities
3. 学会等名 第20回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東 晃太、松崎 元紀、渡部 聡、稲葉 謙次
2. 発表標題 PDIファミリー酵素PDIRの3つのチオレドキシソドメインの異なる機能的および化学的特性
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三宅 杏美子, 渡部 聡, 天貝 佑太, 稲葉 謙次
2. 発表標題 小胞体における亜鉛結合性シャペロンERp44とクライアントとの複合体の解離機構の生化学的解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥村正樹、稲葉謙次
2. 発表標題 小胞体内ジスルフィド結合触媒ネットワークとインスリンフォールディングの品質管理
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Molecular basis for the cooperation of ERp44 and zinc for protein quality control at the ER-Golgi interface
3. 学会等名 The 14th ER & Redox Club Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Molecular basis for the pH- and zinc-dependent protein quality control at the ER-Golgi interface
3. 学会等名 Structural Biology Seminar at Weissman Institute of Science (招待講演)
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Inaba, K.
2 . 発表標題 Molecular basis for the pH- and zinc-dependent protein quality control at the ER-Golgi interface
3 . 学会等名 Structural Biology Seminar at Technical University of Munich (招待講演)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Watanabe, S., Amagai, Y., Sannino, S., Yamada, M., Sitia, R. and Inaba, K.
2 . 発表標題 Structural basis of zinc-dependent protein quality control in the early secretory pathway
3 . 学会等名 Cell Biology of Metals, Gordon Research Conference (招待講演) (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 M. Okumura, K. Noi, S. Kanemura, M. Kinoshita, T. Saio, Y. Inoue, T. Hikima, S. Akiyama, T. Ogura, and K. Inaba
2 . 発表標題 Dynamic assembly/disassembly of Protein Disulfide Isomerase during the catalysis of oxidative protein folding
3 . 学会等名 The 14th ER & Redox Club Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Amagai, Y., Yamada, M., Watanabe, T., Kowada, T., Naramoto, S., Watanabe, S., Kyojuka, J., Sitia, R., Mizukami, S. and Inaba, K.
2 . 発表標題 Visualization of zinc in the ER and Golgi
3 . 学会等名 The 14th ER & Redox Club Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 C. Hirayama, M. Okumura, K. Machida, K. Noi, T. Ogura, H. Imataka, K. Inaba
2 . 発表標題 Mechanisms of translation-coupled oxidative folding
3 . 学会等名 The 14th ER & Redox Club Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 M. Matsusaki, S. Okada, K. Arai, Y. Hidaka, K. Inaba, T. Muraoka, and M. Okumura
2 . 発表標題 Newly developed thiol-disulfide exchange agent, guanidino-thiol
3 . 学会等名 The 14th ER & Redox Club Meeting (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Amagai, Y., Yamada, M., Watanabe, T., Kowada, T., Naramoto, S., Watanabe, S., Kyozuka, J., Sitia, S., Mizukami, S. and Inaba, K.
2 . 発表標題 ERp44 acquires Zinc ions at the ER-Golgi intermediate compartment via ZnT7
3 . 学会等名 The 6th Meeting of International Society for Zinc Biology (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 S. Kanemura, M. Okumura, P.J. Robinson, N.J. Bulleid, and K. Inaba
2 . 発表標題 Mechanisms of disulfide bond formation of newly synthesized polypeptide chains in the endoplasmic reticulum
3 . 学会等名 International Symposium on Disordered Proteins, Protein Folding, and Disease-causing Aggregation (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Matsusaki, S. Okada, K. Inaba, T. Muraoka, and M. Okumura
2. 発表標題 Coupling effects of thiol and urea-type groups for promotion of oxidative folding
3. 学会等名 International Symposium on Disordered Proteins, Protein Folding, and Disease-causing Aggregation (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Zinc ions regulate ERp44-dependent protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Novel protein quality control system cooperated by zinc ions and ERp44 in the early secretory pathway
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 謙次
2. 発表標題 構造生物学が明らかにする細胞のタンパク質品質管理機構
3. 学会等名 第1回バイオ単分子研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部 聡, 天貝佑太, 山田桃, Roberto Sitia, 稲葉謙次
2. 発表標題 亜鉛イオンとシャペロンタンパク質ERp44による新たなタンパク質品質管理機構
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天貝佑太, 山田桃, 渡邊朝美, 小和田俊行, 渡部聡, 水上進, 稲葉謙次
2. 発表標題 亜鉛が制御する初期分泌経路のタンパク質品質管理機構
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 E.F. Sofia, S. Kanemura, H. Kadokura, M. Okumura, and K. Inaba
2. 発表標題 Mechanistic basis and physiological functions of GPx7 and GPx8, newly identified PDI oxidases in the mammalian endoplasmic reticulum
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平山千尋, 奥村正樹, 町田幸大, 野井健太郎, 小椋光, 今高寛晃, 稲葉謙次
2. 発表標題 PDIファミリー酵素による新生鎖の酸化的フォールディングの触媒機構
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村正樹、野井健太郎、金村進吾、木下岬、斉尾智英、井上裕一、引間孝明、秋山修志、小椋光、稲葉謙次
2. 発表標題 酸化的フォールディングを触媒するPDIの可視化
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会 第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村正樹、稲葉謙次
2. 発表標題 Understanding the mechanism by PDI family control proteostasis
3. 学会等名 第92回日本生化学大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuta Amagai, Momo Yamada, Tomomi Watanabe, Toshiyuki Kowada, Satoshi Naramoto, Satoshi Watanabe, Junko Kyojuka, Roberto Sitia, Shin Mizukami, Kenji Inaba
2. 発表標題 ZnT7 regulates ERp44 through the control of Zn ²⁺ concentrations at the ERGIC/cis-Golgi
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平山千尋、町田幸大、野井健太郎、奥村正樹、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 新生鎖の立体構造形成を補助するPDIファミリー酵素のジスルフィド結合導入機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥村正樹、金村進吾、松崎元紀、木下岬、荒井堅太、平山千尋、天貝佑太、門倉広、秋山修志、稲葉謙次
2. 発表標題 PDIファミリーメンバーP5の新規構造と機能
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八巻聡、河野憲二、稲葉謙次、門倉広
2. 発表標題 ヒト細胞小胞体機能の低下を鋭敏に検出するレポーターの開発と応用
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤 翔悟、井上 道雄、稲葉 謙次
2. 発表標題 ERdj5とBiPの共役による構造異常タンパク質中のジスルフィド結合還元機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋田 丈徳、井上 道雄、稲葉 謙次
2. 発表標題 分泌経路局在型カルシウムポンプSPCA1の機能解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhang, Y., Inoue, M., Watanabe, S., Tsutsumi, A., Nishizawa, T., Kikkawa, M., Nagata, K. and Inaba, K.
2. 発表標題 Structural basis of Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2b regulation via transmembrane helix interplay
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Zinc ions regulate ERp44-dependent protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 TAIPEI Tech-IMTRAM joint symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Zinc ions regulate ERp44-mediated protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 International Meeting "Proteins: from the cradle to the grave" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Zinc ions have a new physiological role in protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 CWRU-Tohoku joint symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inaba, K.
2. 発表標題 Molecular basis of the ERp44-Zn ²⁺ cooperation for protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 第91回日本生化学会年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe, S., Amagai, Y., Sitia, R. and Inaba, K.
2. 発表標題 Structural basis of pH- and zinc-dependent multiple client recognition by ERp44
3. 学会等名 第56回 日本生物物理学会年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上 道雄, 作田 菜奈美, 渡部 聡, 田中 良樹, 潮田 亮, 加藤 幸成, 高木 淳一, 塚崎 智也, 永田 和宏, 稲葉 謙次
2. 発表標題 Structural basis of Sarco/Endoplasmic reticulum Ca ²⁺ -ATPase 2b regulation via transmembrane helix interplay
3. 学会等名 第56回 日本生物物理学会年会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田 桃, 天貝 佑太, 渡部 聡, Sitia Roberto, 稲葉 謙次
2. 発表標題 Identification of the zinc transporters involved in functional regulation of ERp44
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 奥村 正樹、金村 進吾、松崎元紀、木下岬、荒井 堅太、秋山 修志、稲葉 謙次
2. 発表標題 P5による基質認識の分子構造基盤
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山千尋、奥村正樹、町田幸大、野井健太郎、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 酸化的フォールディングを触媒するPDIファミリー酵素と新生鎖間のインタープレー
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金村 進吾、奥村 正樹、Neil Bulleid、稲葉 謙次
2. 発表標題 小胞体内腔における新生鎖のジスルフィド結合形成反応の解析
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Elza F Sofia、金村 進吾、奥村 正樹、稲葉 謙次
2. 発表標題 Mechanistic basis of GPx7 and GPx8 catalytic cycles for PDI oxidation in concert with hydrogen peroxide
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takushi Fujimoto, Oriie Nakamura, Michiko Saito, Akio Tsuru, Masaki Matsumoto, Kenji Kohno, Kenji Inaba, Hiroshi Kadokura
2. 発表標題 Physiological substrates of PDIp, a pancreas-specific protein disulfide isomerase family member protein
3. 学会等名 FASEB Science Research Conference Protein Folding in the Cell (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe, S., Amagai, Y., Sannino, S., Harayama, M., Masui, S., Yamada, M., Sitia, R. and Inaba, K.
2. 発表標題 Structural basis of zinc-dependent ERp44 regulation for protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 International Meeting "Proteins: from the cradle to the grave" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuta Amagai, Satoshi Watanabe, Sara Sannino, Momo Yamada, Tiziana Tempio, Manami Harayama, Roberto Sitia and Kenji Inaba
2. 発表標題 Zinc ions control the function of ERp44 for protein quality control in the early secretory pathway
3. 学会等名 International Meeting "Proteins: from the cradle to the grave" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chihiro Hirayama, Masaki Okumura, Kodai Machida, Kentaro Noi, Teru Ogura, Hiroaki Imataka and Kenji Inaba
2. 発表標題 Elucidation of molecular mechanisms of PDI family enzymes acting on nascent chains in early-stage of translation
3. 学会等名 International Meeting "Proteins: from the cradle to the grave" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平山千尋、奥村正樹、町田幸大、野井健太郎、小椋光、今高寛晃、稲葉謙次
2. 発表標題 Molecular mechanisms of PDI family enzymes in catalysis of oxidative folding of nascent chains
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 天貝佑太、稲葉謙次
2. 発表標題 初期分泌経路内のタンパク質品質管理におけるERp44の新たな生理的機能の探索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Momo Yamada, Yuta Amagai, Satoshi Watanabe, Roberto Sitia, Kenji Inaba
2. 発表標題 Identification of the Zinc Transporter critical for regulation of ERp44, a key protein quality controller in the early secretory pathway
3. 学会等名 TAIPEI Tech-IMTRAM joint symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Elza Firdiani Sofia, Shing Kanemura, Hiroshi Kadokura, Masaki Okumura, Kenji Inaba
2. 発表標題 Mechanistic basis of hydrogen peroxide-dependent PDI family oxidation catalyzed by GPx7 and GPx8
3. 学会等名 TAIPEI Tech-IMTRAM joint symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 天貝 佑太、渡部 聡、稲葉 謙次	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 8
3. 書名 実験医学	

1. 著者名 奥村 正樹、稲葉 謙次	4. 発行年 2020年
2. 出版社 日本生化学会	5. 総ページ数 6
3. 書名 日本生化学会誌	

1. 著者名 奥村 正樹、稲葉 謙次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 6
3. 書名 月刊『細胞』「エレクトロンバイオダイナミクスが支える生命の生存戦略」Vol. 51, No. 8	

1. 著者名 奥村 正樹、稲葉 謙次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ニューサイエンス	5. 総ページ数 6
3. 書名 月刊『細胞』「構造生物学の最前線」Vol. 51, No.12	

1. 著者名 Okumura, M., Watanabe, S. and Inaba, K.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Royal Chemical Society	5. 総ページ数 25
3. 書名 Oxidative folding of proteins 2nd Edition	

1. 著者名 渡部 聡、稲葉 謙次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 アグネ技術センター	5. 総ページ数 6
3. 書名 放射光利用の手引き「細胞のタンパク質の品質を監査する仕組み」	

1. 著者名 奥村 正樹、稲葉 謙次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 アグネ技術センター	5. 総ページ数 5
3. 書名 放射光利用の手引き「細胞のタンパク質の立体構造を頑強にする仕組み」	

1. 著者名 奥村 正樹、稲葉 謙次	4. 発行年 2018年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 11
3. 書名 アルツハイマー病 発症メカニズムと新規診断法・創薬・治療開発	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計2件

産業財産権の名称 タンパク質のリフォールディング剤、タンパク質のリフォールディング方法及びタンパク質の再生方法	発明者 村岡 貴博、岡田 隼輔、奥村 正樹、稲葉 謙次、松崎 元紀	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-109769	取得年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 液滴及びその製造方法	発明者 奥村 正樹、松崎 元紀、金村 進吾、齋尾 智英、稲葉 謙次	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-100517	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

<p>東北大学多元物質科学研究所生体分子構造研究分野 http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/inaba/html/ 東北大学生命科学研究科生体分子構造研究分野 稲葉謙次 https://www.lifesci.tohoku.ac.jp/research/teacher/detail.html?id=16689 東北大学多元物質科学研究所生体分子構造研究分野publications http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/inaba/html/publications1.html 東北大学多元物質科学研究所プレスリリース http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/news_press/20190213/</p>

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
イタリア	San Raffaele Scientific Institute			
台湾	Academia Sinica			