

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	タンパク質品質管理に関わるジスルフィド結合形成・開裂因子の分子基盤
研究機関・部局・職名	東北大学・多元物質科学研究所・教授
氏名	稲葉 謙次

【研究目的】

二つのシステイン間で形成されるジスルフィド結合は、タンパク質の高次構造形成ならびに機能発現制御において重要な役割を担う。細胞の中には、ジスルフィド結合を効率よく導入し、タンパク質の高次構造形成を促すシステムが存在する一方で、誤ったジスルフィド結合の形成により誘起されたミスフォールド蛋白質を速やかに分解除去するシステムも存在する。これらシステムが正常に機能することにより、細胞内のタンパク質の品質が管理され、また細胞の恒常性が維持される。

全タンパク質の30%以上も占める分泌タンパク質の合成の場である小胞体には、ジスルフィド結合形成において中心的役割を担う Protein Disulfide Isomerase (PDI)ファミリーに属するタンパク質が20種類以上も存在するが、それら因子の具体的な機能とその作用機序はほとんど解明されていない。またこれら因子は、細胞内におけるレドックス恒常性維持にも深く関与すると考えられているが、具体的にこれら因子を介した電子伝達経路の記述はほとんどなされていないのが現状である。そこで本研究課題では、細胞におけるタンパク質品質管理機構において必須の因子であるジスルフィド結合形成および開裂因子の構造と機能発現メカニズムを詳細に解明すると同時に、それら因子間の電子伝達カスケードを網羅的に解析することを主目的とする。

【総合評価】

○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

小胞体 (ER) 内で起る新生分泌タンパク質への S-S 結合の導入機構、S-S 結合の架け違いによる凝集をほどこいて分解にまわす機構、さらには ER から逃れた S-S 結合をもつ未成熟な分泌タンパク質を cis-Golgi 領域から回収する機構など、ER で起る S-

S架橋の酸化還元を介したタンパク質品質管理について結晶構造解析を基盤にして、いくつかの重要な発見を一流の国際誌に成果を発表してきた点は極めて高く評価でき、本研究は予想以上の進展をみたと言える。

レドックスネットワークのプロテオミクスによる全容解明は、PDIファミリーと相互作用するタンパク質の網羅的同定、複数のノックアウト細胞の作成、ノックアウト細胞が作るタンパク質の網羅的解析などが開始され、成果が得られつつあると判断される。

研究代表者は本研究課題中に九州大学准教授から東北大学教授に昇進し、独立した研究室を運営することになった。課題終了後も本研究課題は新学術領域研究やCRESTなどで支援されることとなっており、今後の発展が期待される。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

2つの研究項目のうち(1)「タンパク質品質管理に関わるジスルフィド結合形成・開裂因子とそのパートナー因子複合体の構造生物学」に関しては、当初計画にあったEDEM1、Ero1等を含む複合体立体構造解析には遅れがみられるものの、ERdj5やPrx4の全長の構造解析や、当初の目的にはなかったpHに依存したタンパク質品質管理機構の一端を明らかにするなど、生化学的知見も含めレドックスシステムに限らず広くタンパク質品質管理機構の構造生物学的・生化学的解析という意味では、ほぼ目的を達成し、順調に進捗したと考えられる。これらの結果はいずれも評価の高い国際学術誌に発表されており、本研究課題は予想以上の進展をみたと言える。

もう一つの研究項目である(2)「小胞体レドックスネットワークのプロテオミクス」に関しては、合計で9種類のノックアウト細胞の作成、SILAC法によるプロテオミクスを開始しており、やや遅れつつも順調に目的を達成しつつあると言える。対象とする因子の機能がリダンダントである可能性を考えると、ダブルノックアウトを作成する必要があり、対応がなされている。ニワトリDT40細胞だけでなく、ヒト細胞のノックアウト細胞をCRISPR/Cas9法を用いて作製することを視野に入れており、今後も適切な対応がなされると思われる。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

ER 内腔に輸送された分泌タンパク質を酸化して S-S 結合を導入するシステムならびにその過程で誤った架橋がなされミスフォールドした分泌タンパク質の S-S 結合を還元し ERAD に供するシステムに関して結晶構造解析を基盤に生化学を駆使して成

果を挙げているのは国内外において本申請者のグループ以外にない。複数のタンパク質品質管理に関わる立体構造解析、相互作用調節機構の構造基盤等を明らかにしており、世界的に見ても先進的な研究を展開している。

PDI ファミリータンパク質の一つである Erdj5 は誤った S-S 架橋を還元し EDEM1 を介して ER 外に逆輸送して分解するシステムの鍵を握るタンパク質であるが、申請者のグループは全長の Erdj5 の結晶構造を解き、これによって EDEM1 に結合したミスフォールド蛋白の S-S 架橋を Erdj5 の還元力に富んだ C-末領域が還元開裂し、しかる後に Bip を介して ER 外に逆輸送して分解される過程を解明した成果 (Mol Cell 2011)、ならびに ER と cis-Golgi の間を KDEL 受容体とともに巡回している Erp44 が ER から漏れだした未成熟タンパク質を ER と cis-Golgi での pH 変化を利用して cis-Golgi で捕獲して ER で解放する反応機構の発見 (Mol Cell 2013)は、いずれも分泌タンパク質の品質管理機構に重要な知見をもたらしたものとしてブレークスルーとも言える特筆されるべき成果である。

Erp44 の pH センサーとしての生化学・細胞生物学的研究など、当初計画にない新たな研究成果が認められる。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

既にこれまでに得られている成果で、タンパク質品質管理機構の解明のなかで、ジスルフィド結合の酸化還元によるレドックス制御という、新しい概念を追求する上で興味深い結果が複数得られており、関連分野の進展に重要な寄与をすると考えられる。

社会的・経済的な課題の解決への波及効果に関しては、本研究は基礎研究としては十分な成果が見込まれるが、必ずしも疾患研究に直接つながるとは言えず、またその段階には達していないと考えられる。しかし、タンパク質品質管理に関わるジスルフィド結合形成・開裂は、細胞内での異常構造タンパク質蓄積と深く関係しており、さらにこの蓄積は、パーキンソン病やアルツハイマー病による神経変性疾患の原因と考えられている。また、免疫グロブリンをはじめとしたジスルフィド結合を有するタンパク質を大量にかつ迅速に産生する際にも本研究成果の持つ役割は大きい。本研究は、細胞における酸化ストレス応答と密接に関わっており、酸化ストレスが原因となる老化、動脈硬化、癌などの疾病とも関連する基礎研究でもあり、将来の発展に期待したい。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (■行われた ・ □行われなかった)

本補助事業期間中の研究代表者の他大学への異動にも関わらず、スムーズに研究計画が遂行された。また、計画を遂行するための研究者の確保にも努力が払われ、人件費に多くの研究費を割いていることもこの研究目的には妥当と考えられる。本研究課題はあくまでも「質の高い」基礎研究によってER内に多数存在するSH基の酸化還元システムの構造、機能、ネットワークを解明することであり、それが結果的に必ずや医療にも波及効果を及ぼすものであると考える。

研究期間内に Mol Cell、Structure などインパクトの高い国際誌を中心に原著論文を発表した成果は十分に評価できる。また国内外の学会での招待講演も頻繁であり成果の発信は極めて適切に行われている。

高校生との対話という点では目立った成果はなかったが、九州大学のサイトなどにおけるプログラムの紹介や大学主催の研究会への参加などが行われている。新聞での成果発表も行っており全般的には実施状況は良好である。