

永田 和宏

京都産業大学
教授

小胞体恒常性維持機構:Redox, Ca^{2+} , タンパク質品質管理のクロストーク

§ 1. 研究実施体制

(1)「永田」グループ

- ① 研究代表者:永田 和宏 (京都産業大学・総合生命科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・ERdj5によるSERCA2bの活性化機構に関する細胞生物学的解析
 - ・ Ca^{2+} 結合型ERdj5の構造変化
 - ・polyQによる小胞体内レドックス環境の変化

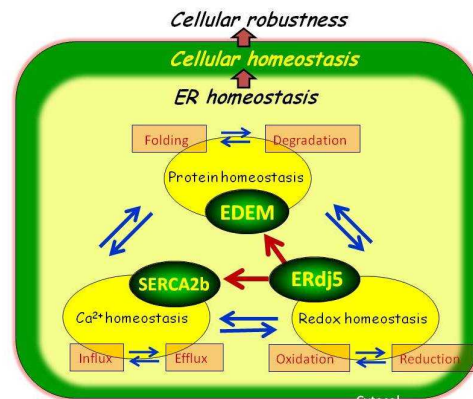
(2)「稲葉」グループ(研究機関別)

- ① 主たる共同研究者:稲葉 謙次 (東北大学・多元物質科学研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・酸化型および還元型SERCA2bの結晶構造解析
 - ・ Ca^{2+} 結合型ERdj5の構造変化
 - ・EDEM3 単独の結晶構造解析

§ 2. 研究実施の概要

小胞体においては、小胞体の robustness (頑強性) を担保するために、3つの主要な恒常性維持機構が働いている。すなわち、タンパク質、レドックス、カルシウムの恒常性(ホメオスタシス)である。ERdj5は小胞体に局在する初めての還元酵素であるが、基質の還元によってERADを促進するのみならず、小胞体カルシウムポンプであるSERCA2bの小胞体内腔側のシステインを還元することによって、カルシウムの取り込みを活性化することを見出し、ERdj5がカルシウム恒常性にも関与していることを発見した。セカンドメッセンジャーとしてのカルシウムの調節は、種々の生理機能、病態の理解に極めて重要な意味を持っており、本研究による新たな調節機構の提示と、タンパク質・レドックス・カルシウムの3つの恒常性間のクロストークの実体解明は、この分野に大きなブレークスルーをもたらすものである。

平成25年度は、次のような研究項目について研究を進める。



1) ERdj5/SERCA2b系を中心としたカルシウム恒常性維持機構

ERdj5とSERCA2bが結合し、またERdj5を欠損させることによってカルシウム取り込みに障害が起きることを明らかにした。ERdj5ノックアウト細胞においては、カルシウムの取り込み遅延が起こっているなど細胞レベルの解析まで進んでいるが、ERdj5のどのチオレドキシンドメインがSERCA2bと結合し、またどのチオレドキシンドメインがその還元に関与しているのかなどについて検討する。

2) SERCA2bの結晶構造解析

SERCA2bを昆虫細胞およびHEK293細胞に発現させ、単一バンドにまで精製し、徹底した条件検討のもとにSERCA2bの結晶を作り、X線結晶解析によってその構造を明らかにする。特に、小胞体内腔側システインの酸化状態、還元状態の2つの構造の違いを明らかにすることで、ERdj5による活性化機構を原子レベルで明らかにする。

3) カルシウム濃度によるERdj5活性の制御機構

ERdj5によるSERCA2bの活性化はどのように制御されているのか、小胞体内腔のカルシウム濃度がERdj5の活性そのものを制御している可能性について検討する。

4) 小胞体関連分解(ERAD)を中心としたタンパク質恒常性維持機構

EDEMが関与するERADの分子機構のより深い理解を目指す。EDEM1及び可溶性が高く発現・精製が比較的容易と考えられるEDEM3にターゲットを絞って、その構造情報に基づく分子機構を明らかにすることを目指す。バキュロウイルス発現系を用いた大量発現精製を試み、EDEM3を効率よく精製することに成功しているため、まずEDEM3の構造解析を完了し、その作用機構を解明する。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国内)

なし

論文詳細情報(国際)

なし