

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

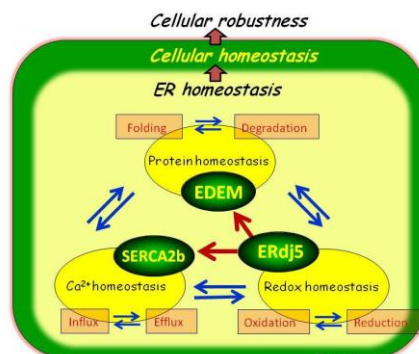
- ① 研究代表者:永田 和宏 (京都産業大学総合生命科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・ERdj5 による SERCA2b の活性化機構に関する細胞生物学的解析
 - ・FRET等によるSERCA2bの動的構造解析
 - ・ Ca^{2+} 結合型ERdj5の構造変化
 - ・polyQによる小胞体内レドックス環境の変化

(2)「稲葉」グループ

- 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の構造解析
 - ・EDEM1及びEDEM3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。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を目指す研究である。



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、SERCA2b の活性を促進することを前年までに明らかにしてきた。ERdj5 が実際にカルシウムの取り込みを促進していることを直接証明するために、セミインタクト系を用いて、小胞体へのカルシウム取り込みを、カルシウムセンサーを用いて直接測定した。ERdj5 ノックアウト細胞では取り込み能力が低下しており、その重要性が確認された。

ERdj5 と SERCA2b が結合し、SERCA2b の活性を促進することを前年までに明らかにしてきた。ERdj5 が実際にカルシウムの取り込みを促進していることを直接証明するために、セミインタクト系を用いて、小胞体へのカルシウム取り込みを、カルシウムセンサーを用いて直接測定した。ERdj5 ノックアウト細胞では取り込み能力が低下しており、その重要性が確認された。

2) SERCA2b の結晶構造解析: SERCA2b の大量発現系を確立し、現在結晶化条件の検討中である。一方、還元型 SERCA2b は酸化型に比べて ATPase 活性が高いことが明らかとなった。また酸化型 SERCA2b に対して ERdj5 存在下での ATPase 活性を測定したところ、ERdj5 の濃度依存的に SERCA2b の ATPase 活性が亢進された。

3) カルシウム濃度による ERdj5 活性の制御機構: カルシウムイオン濃度が低い時には ERdj5 は SERCA2b を活性化するが、高い時には ERdj5 による SERCA2b の活性化能力が低下していることを明らかにした。

4) 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。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、大量発現精製に成功し、結晶化条件を検討中である。

5) サイトゾルにおけるタンパク質恒常性の破綻が小胞体のレドックスに及ぼす影響: サイトゾルに polyQ を発現させると凝集体を形成する。これはサイトゾルにおけるタンパク質恒常性の破綻を意味する。この時、小胞体内腔のレドックス状態が還元方向へシフトすることを発見した。そのメカニズムに迫る。

1. K. Kawasaki, R. Ushioda, S. Ito, K. Ikeda, Y. Masago & K. Nagata*: *J Biol Chem.* 290: 3639-3646 (2015)

2. D. Morito, K. Nishikawa, J. Hoseki, A. Kitamura, Y. Kotani, K. Kiso, M. Kinjo, Y. Fujiyoshi & K. Nagata: *Scientific Reports* 24;4:4442(2014)

3. Kojima, R.†, Okumura, M.†, Masui, S., Kanemura, S., Inoue, M., Saiki, M., Yamaguchi, H., Hikima, T., Suzuki, M., Akiyama, S. and Inaba, K.* *Structure*, 22: 431-443 (2014)