2SE04

26S プロテアソームサブユニット Rpn10 の分子多様性と細胞機能における役割

○川原 裕之、南 亮介、嶋田 益弥、横沢 英良（北大・院薬・生化）

近年、蛋白質の代謝的安定性の変化が細胞機能の制御に重要であるとの認識が定着しつつあり、その制御にはプロテアソームに依存した蛋白質分解系が大きな役割を演じている。プロテアソームは主としてユビキチン化された標的蛋白質を選択的に認識する ATP 依存性プロテアーゼであり、総数 40 種以上のサブユニットから構成された多成分複合体である。これまでその基本的なサブユニット構成が明らかになりつつあるが、この巨大分子複合体の作用機構、特に基質識別の分子機構についてはまだ十分に解明されていない。我々は、マウス初期胚で組織特異的な発現パターンを示す初めてのプロテアソームサブユニット遺伝子としてユビキチン結合サブユニット Rpn10 のサブタイプを同定し、プロテアソームによる基質識別機構には複数の経路が存在していることを報告してきた。それらは Rpn10 遺伝子の選択的スプライシングにより生成し、各サブタイプの発現は時間・空間的に制御されている。一方、酵母 Rpn10 にはこのような選択的スプライシングは起こらず、また酵母とマウスとでは Rpn10 蛋白質の C 末端構造も異なっている。このような状況下、我々は実験モデルとして線虫・アフリカツメガエルなど無脊椎動物から高等生物にいたる広い生物種の Rpn10 ファミリーについて cDNA を単離し、それらの機能について解析を進めてきた。Rpn10 ゲノム構造の解析結果とあわせて、Rpn10 ファミリーの機能的・構造的変化の意義について考察する。同時に、我々は多細胞生物の細胞増殖と分化における Rpn10 サブユニットの役割を解明するために、線虫を用いた遺伝学的な解析もすすめている。Rpn10 によって時期あるいは組織特異的に認識される新しい基質を同定するための最近のアプローチについても紹介したい。

H. Kawahara, R. Minami, M. Shimada and H. Yokosawa : Isolation and functional analysis of a novel subtype of Rpn10, an ubiquitin-binding subunit of the 26S proteasome.

2SE06

タンパク質の糖鎖修飾と NMR 構造生物学

○山口 芳樹¹、高橋 禮子^{1,2}、加藤 晃一^{1,2,3}（¹名市大・院薬、²グライエンス、³分子研）

タンパク質に結合している糖鎖は多種多様であり、糖鎖の付加によりタンパク質は天文学的ともいえる多様性を獲得する。糖鎖の多彩な構造がタンパク質にいかなる機能を賦与するのか、その解明に向けた糖タンパク質の構造・機能研究の進展が強く望まれている。しかしながら、タンパク質に結合している糖鎖の構造を予測することはもとより、ゲノム情報に基づいて糖鎖の修飾部位を予測することさえ現時点では困難である。また、糖タンパク質は糖鎖構造の不均一性などの問題で結晶化が困難であり、構造生物学研究も著しく立ち遅れている。このような状況のもとで、演者らは安定同位体標識を利用した NMR 法によって糖タンパク質の高次構造や糖鎖とレクチンの相互作用に関する研究を展開してきた。さらに、多次元 HPLC マップ法や質量分析法により様々な糖タンパク質に結合している N-結合型糖鎖の迅速な構造決定を行うとともに、グライコミックスの研究ツールとして N-結合型糖鎖ライブラリーを構築し、糖鎖の構造・機能解析に応用している。本発表では代表的な糖タンパク質である免疫グロブリン G (IgG) をとりあげ、これらの方法論を適用して明らかとなった糖鎖の構造と役割、病態による糖鎖構造の変化について発表する。特に、IgG の Fc 領域と結合するタンパク質 (Fcγ レセプターなど) による分子認識プロセスにおいて糖鎖の果たしている役割や細胞内で機能している種々のレクチンの糖鎖認識について焦点をあて、演者らの最近の知見を踏まえて議論したい。

Y. Yamaguchi, N. Takahashi and K. Kato : NMR structural biology of protein glycosylation

2SE05

I 型膜貫通蛋白質の翻訳後切断による新規機能獲得機構の解析

○中矢 正、鈴木 利治（北大院・薬・神経科学分野）

I 型膜タンパク質には、細胞外刺激を細胞内に伝達する受容体機能を持つものがある。一般的な情報伝達経路として、細胞内ドメインのリン酸化や G-タンパク質などの解離・結合が関与することが知られている。近年、これらに加えて新たな細胞内情報伝達経路が見いだされた。これは Regulated Intramembrane Proteolysis (RIP) と呼ばれ、刺激を受けると、膜近傍細胞外と細胞膜内の連続した切断が生じ、遊離した細胞内ドメインが核移行し細胞応答を引き起こす。RIP 制御を受ける I 型膜タンパク質の報告は年々増加し、生体で重要な機能を果たしていると考えられているが、その作用機構や機能が詳しく解明されたものは少ない。RIP を引き起こす切断分子として Presenilin を含む gamma-secretase 複合体が知られている。Presenilin はアルツハイマー病 (AD) 原因因子の 1 つであるアミロイド前駆体蛋白質 (APP) を切断し、AD 発症の原因物質とされる A-beta ペプチドを細胞外に放出すると同時に細胞内断片 (AICD) を遊離する。従って、AD 発症と RIP 機能の関与が考えられるが、リガンドや標的遺伝子は明らかでない。我々は APP-RIP 系の制御機構に着目し解析を進めている。本発表では、APP 全長分子の機能及び、RIP による切断を受けた後獲得する新たな機能の制御機構について解析した最新の結果を報告する。

T. Nakaya and T. Suzuki : Analysis of novel functions of cleaved fragments from type I transmembrane proteins

3SB51

タンパク質の中での、電子とエネルギーの移動：現在と未来、実験の立場から

○伊藤 繁（名大院・理学系・物質理学（物理））

本来絶縁体であるタンパク質中での、電子移動反応や励起エネルギー移動反応の現時点での理解をざっとまとめてみます。ほぼ原理もわかり、改造技術も発達しました。光合成系でも、どうしてうまく、電子や励起エネルギーが流れるかがわかってきました。分子間の電子移動速度の最適化には、(1) エネルギー差と反応前後での核再配置エネルギーをあわせ、(2) 距離を近づけ、(3) 配向を合わせ、(4) タンパク質の結合もつかう、この原理を巧みに使い、一定の方向にエネルギーのロス少なく必要な反応だけがすすむ。タンパク質はこの原理を微妙に調節して色々な反応を進めている。でも、どうしてこんな構造がいるのでしょうか？もっと違った光合成はないのでしょうか？本来絶縁体であるタンパク質中でおこる電子移動反応や励起エネルギー移動系はどんなふううまれ、進化してきたのでしょうか？これに代わる人工タンパク質を作ってみたい！原理は本当にわかったのでしょうか？なんだかまだわかった気がしない！どこまで追求できるの？などの思いが、わいてきます。そこで「新しい、役に立つ理論がほしいです！」

Shigeru Itoh : Introduction: Flow of excitation energy and electrons in protein. Past and future: A view from experimental research.