

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 22 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

|                |                                   |
|----------------|-----------------------------------|
| 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・<br>部局・職名 | 九州大学・生体防御医学研究所・准教授                |
| 氏名             | 稲葉 謙次                             |

### 1. 当該年度の研究目的

高等生物細胞の小胞体品質管理に関わるジスルフィド結合形成・開裂因子の作用機序の解明を目指した構造生物学的研究を展開する。さらに、これら因子間の新規ネットワークとその機能的役割の解明を目指した細胞生物学的およびプロテオミクスの研究を新たに開始する。

### 2. 研究の実施状況

平成 22 年度、本研究者はほ乳類細胞の小胞体においてジスルフィド結合の形成に関わるシステム (Ero1-PDI)、および小胞体で生じたミスフォールド蛋白質のジスルフィド結合を還元し小胞体関連分解を促進するシステム (ERdj5-EDEM-BiP) に焦点をあて、生体分子構造に立脚した研究を進めた。その結果、小胞体におけるタンパク質ジスルフィド結合形成因子 Ero1 $\alpha$ とミスフォールド蛋白質の分解に関わる還元酵素 ERdj5 の結晶構造を共に高分解能で解くことに成功した (Inaba\* et al., *EMBO J*, 2010; Hagiwara et al., *Mol. Cell*, 2011)。Ero1 $\alpha$ の構造情報に基づく系統的な *in vitro* および *in vivo* 解析により、同酵素が 20 種類以上もある PDI (Protein Disulfide Isomerase) ファミリータンパク質の中で PDI のみを特異的かつ効率的に酸化する分子機構を解明した (Masui et al., *J. Biol. Chem.*, 2011)。現在、Ero1 $\alpha$ -PDI 間の特異的な相互作用機構に関する理解をさらに深めるため、Ero1 $\alpha$ -PDI 複合体の結晶構造解析を精力的に進めている。一方、ERdj5 の結晶構造解析の結果を基に系統的な機能解析を進め、同酵素が促進する一連の小胞体関連分解経路の分子機構を解明するに至った。また ERdj5 と協同的に働きミスフォールド蛋白質のリクルートに関わるとされる EDEM の構造解析に取り組むため、昆虫細胞を用いた EDEM の大量発現精製系の構築・改良に取り組み、大きな進展が見られた。これら構造生化学的仕事に加え、小胞体におけるジスルフィド結合形成・開裂因子間の新規ネットワークとその機能的役割を解明するため、これら各因子のノックアウト細胞ライブラリーの作製に着手した。すでに幾種類か作製済みであり、今後ジスルフィド結合形成・開裂因子の新規機能に関するデータが多く得られることが見込まれる。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <p>雑誌論文<br/>計 5 件</p>              | <p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Masui, S., Vavassori, S., Fagioli, C., Sitia, R. and <u>Inaba, K.</u>*<br/>Molecular bases of cyclic and specific disulfide interchange between human Ero1<math>\alpha</math> and PDI<br/><i>J. Biol. Chem.</i> (2011) 286 (18), 16261-16271<br/>URL: <a href="http://www.jbc.org/content/286/18/16261.abstract">http://www.jbc.org/content/286/18/16261.abstract</a></li> <li>Hagiwara, M., Maegawa, K., Suzuki, M., Ushioda, R., Araki, K., Matsumoto, Y., Hoseki, J., Nagata, K.* and <u>Inaba, K.</u>*<br/>Structural basis of an ERAD pathway mediated by the ER-resident disulfide reductase ERdj5<br/><i>Mol. Cell</i> (2011) 41 (4), 432-444<br/>URL: <a href="http://www.cell.com/molecular-cell/abstract/S1097-2765(11)00048-7">http://www.cell.com/molecular-cell/abstract/S1097-2765(11)00048-7</a></li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><u>稲葉 謙次</u><br/>小胞体品質管理を支えるジスルフィド結合形成・開裂因子の構造基盤<br/>生体機能関連化学ニュースレター (2011) Vol. 25, p3-6</li> <li>萩原 誠智、永田 和宏、<u>稲葉 謙次</u><br/>小胞体に内在するジスルフィド還元酵素 ERdj5 により促進される小胞体関連分解経路の構造的な基盤<br/>ライフサイエンス新着論文レビュー 2011年3月25日<br/>URL: <a href="http://first.lifesciencedb.jp/archives/2403">http://first.lifesciencedb.jp/archives/2403</a></li> </ol> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><u>Inaba, K.</u><br/>Crystal structure of Ero1<math>\alpha</math>, a flavoenzyme responsible for protein disulfide generation in human cells<br/><i>Spring 8 Research Frontier 2010</i> in press</li> </ol> |
| <p>会議発表<br/>計 3 件</p>              | <p>専門家向け 計 3 件<br/>(国際学会)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><u>Inaba, K.</u> (招待講演)<br/>Crystal structures of Ero1 and ERdj5 reveal the mechanisms of ER quality control in mammalian cells<br/>The 7th G-COE international symposium on Stem Cells and Regenerative Medicine, Singapore, 2/10-14 2011</li> </ol> <p>(国内学会)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><u>稲葉 謙次</u> (招待講演)<br/>蛋白質ジスルフィド結合の形成および開裂に関わる細胞レドックスシステムの構造的基盤<br/>大阪大学蛋白質研究所セミナー、大阪、3/9-10 2011</li> <li>増井 翔史、鈴木 守、飯田 裕果、Stefano Vavassori, Roberto Sitia, <u>稲葉 謙次</u><br/>ヒト細胞中における蛋白質ジスルフィド結合形成システム Ero1-PDI の分子基盤<br/>大阪大学蛋白質研究所セミナー、大阪、3/9-10 2011</li> </ol> <p>一般向け 計 0 件</p>   |
| <p>図書<br/>計 0 件</p>                |  |
| <p>産業財産権<br/>出願・取得状況<br/>計 0 件</p> | <p>(取得済み) 計 0 件<br/>(出願中) 計 0 件</p>  |
| <p>Webページ<br/>(URL)</p>            | <p>九州大学 生体防御医学研究所 蛋白質化学分野<br/>URL: <a href="http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/labo/pgpc/">http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/labo/pgpc/</a></p>   |

様式19 別紙1

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <p>国民との科学・技術対話の実施状況</p> | <p>九州大学のWEBサイトの中に特色ある研究の取り組みとして、本プログラムの内容を公開し、研究目的・研究内容の情報発信を行った。</p>  |
| <p>新聞・一般雑誌等掲載計5件</p>    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 日経新聞朝刊 34 面（2011 年 2 月 19 日）「タンパク質不良品処理の仕組み解明」</li> <li>2. 京都新聞朝刊 25 面（2011 年 2 月 19 日）「不良品タンパク質排除酵素の働き解明」</li> <li>3. 日刊工業新聞 17 面（2011 年 2 月 21 日）「不良たんぱく質分解酵素 構造分子機構を解明」</li> <li>4. 産経新聞朝刊 24 面（2011 年 2 月 24 日）「不良品タンパク質解体 酵素の仕組み解明」</li> <li>5. 科学新聞 2 面（2011 年 3 月 25 日）「細胞内の不良品タンパク質排除 酵素の構造・機能判明」</li> </ol> |
| <p>その他</p>              |  |

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

|      | ①交付決定額      | ②既受領額<br>(前年度迄の<br>累計) | ③当該年度受<br>領額 | ④(=①-②-<br>③)未受領額 |
|------|-------------|------------------------|--------------|-------------------|
| 直接経費 | 123,000,000 | 0                      | 43,000,000   | 80,000,000        |
| 間接経費 | 36,900,000  | 0                      | 12,900,000   | 24,000,000        |
| 合計   | 159,900,000 | 0                      | 55,900,000   | 104,000,000       |

## 2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

|      | ①前年度未執<br>行額 | ②当該年度受<br>領額 | ③当該年度受<br>取利息等額<br>(未収利息を<br>除く) | ④(=①+②+<br>③)当該年度<br>合計収入 | ⑤当該年度<br>執行額 | ⑥(=④-⑤)<br>当該年度未執<br>行額 |
|------|--------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|--------------|-------------------------|
| 直接経費 | 0            | 43,000,000   | 0                                | 43,000,000                | 1,500,000    | 41,500,000              |
| 間接経費 | 0            | 12,900,000   | 0                                | 12,900,000                | 450,000      | 12,450,000              |
| 合計   | 0            | 55,900,000   | 0                                | 55,900,000                | 1,950,000    | 53,950,000              |

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

|         | 金額        | 備考                  |
|---------|-----------|---------------------|
| 物品費     | 1,500,000 | REVCO超低温槽, ピペットマン 外 |
| 旅費      | 0         |                     |
| 謝金・人件費等 | 0         |                     |
| その他     | 0         |                     |
| 直接経費計   | 1,500,000 |                     |
| 間接経費計   | 450,000   |                     |
| 合計      | 1,950,000 |                     |

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

| 物品名       | 仕様・型・性能<br>等 | 数量 | 単価<br>(単位:円) | 金額<br>(単位:円) | 納入<br>年月日 | 設置研究機関<br>名 |
|-----------|--------------|----|--------------|--------------|-----------|-------------|
| REVCO超低温槽 | ULT-1386-5型  | 1  | 1,417,185    | 1,417,185    | 2011/3/23 | 九州大学        |
|           |              |    |              | 0            |           |             |
|           |              |    |              | 0            |           |             |