

Molecular Biochemistry II

生体物質化学 II

I ゴルジ体ストレス応答の解析

The Analysis of the Golgi Stress Response

吉田秀郎・佐々木桂奈江

Yoshida, H., Sasaki, K.

ゴルジ体は分泌タンパク質や膜タンパク質の糖鎖修飾や選別輸送を行う細胞小器官であるが、細胞内のゴルジ体の存在量はゴルジ体ストレス応答と呼ばれる機構によって厳密に制御されている。ゴルジ体ストレス応答は小胞体ストレスと同様、細胞小器官の量的調節機構の一つであり、学術上非常に重要な研究課題である。われわれは、N型糖鎖修飾や選別輸送に関与する因子の発現を制御するゴルジ体ストレス応答の一経路である TFE3 経路をこれまでに同定した。転写因子 TFE3 は TFE3 経路を制御する主要な転写因子であり、平常時にはリン酸化されることによって細胞質に繫留されて不活性な状態に保たれているが、ゴルジ体ストレス時には脱リン酸化されて核へ移行し、転写制御配列 GASE に結合して N 型糖鎖修飾の修飾酵素や選別輸送因子遺伝子の転写を誘導する。一方、もう一つの転写因子 MLX はゴルジ体ストレス時に核へ移行して GASE に競合的に結合し、TFE3 の GASE 結合を阻害することによってゴルジ体ストレス応答を負に制御している。TFE3 を脱リン酸化する脱リン酸化酵素や TFE3 経路のセンサー分子を Genome-wide siRNA library screening によって検索した結果、いくつかの制御因子候補を単離することが出来た（東京大学薬学研究所一条秀憲博士・名黒功博士との共同研究）。

また、ゴルジ体で起こる他のタイプの糖鎖修飾に関与する因子の発現を制御するゴルジ体ストレス応答の新規経路についても解析を進めている。具体的には、コンドロイチン硫酸やヘパラン硫酸のようなプロテオグリカンの糖鎖修飾を制御するプロテオグリカン経路、消化管などの粘膜に存在するムチン型糖鎖修飾を制御する mucin 経路、小胞体からゴルジ体へのコレステロール輸送を制御するコレステロール経路について、転写制御因子や転写制御配列を同定しようと試みている。これまでに、プロテオグリカン経路を制御しているエンハンサー配列として PGSE を同定し、PGSE 配列に結合してプロテオグリカン経路を制御する転写因子 KLF2 と KLF4 を単離した。興味深いことに、KLF2 と KLF4 の発現は、プロテオグリカン経路によって誘導されることがわかった。現在は、GeCKO スクリーニングによってセンサー分子を検索しようとしている。また、GeCKO スクリーニングによってコレステロール経路の制御因子を探索したところ、PITPNB と PI4KA、PI4KB、CDIPT を単離した。ムチン経路に関しては、エンハンサー配列 MGSE と転写因子の候補を複数単離している。

II 小胞体ストレス応答の解析

The Analysis of the ER Stress Response

吉田秀郎・佐々木桂奈江
Yoshida, H., Sasaki, K.

小胞体は分泌タンパク質や膜タンパク質の合成とフォールディングを司る細胞小器官であるが、細胞内の小胞体の存在量は小胞体ストレス応答と呼ばれる機構によって厳密に制御されている。小胞体ストレス応答も細胞小器官の量的調節機構の一つであり、細胞生物学の根幹に関わる命題の一つであるとともに、神経変性疾患など様々な疾患の発症と強く関連している。これまでにわれわれは、小胞体ストレス応答依存的な転写誘導を制御するエンハンサー配列 ERSE や転写因子 pATF6(N) やセンサー分子 pATF6(P)、活性型転写因子 pXBP1(S) と制御因子 pXBP1(U)、調節因子 UBC9 を同定した。これらの制御因子の機能解析と立体構造解析を並行して行うことによって、小胞体ストレス応答の分子機構をピコバイオロジーのレベルで解明する。現在は、pXBP1(U) に結合する因子 CK2 α の解析を中心に研究を進めている。また、GeCKO スクリーニングによって小胞体ストレス応答の新規制御因子を検索中である。

発表論文 List of Publications

- I-1 Dang TT, Kim MJ, Lee YY, Le HT, Kim KH, Nam S, Hyun SH, Kim HL, Chung SW, Chung HT, Jho EH, Yoshida H, Kim K, Park CY, Lee MS, Back SH. Phosphorylation of EIF2S1 (eukaryotic translation initiation factor 2 subunit alpha) is indispensable for nuclear translocation of TFEB and TFE3 during ER stress. *Autophagy*. 2023 Feb 9;:1-32. doi: 10.1080/15548627.2023.2173900.
- I-2 吉田秀郎 ゴルジ体ストレス応答:ゴルジ体の量と質を制御するサーベイランスシステム 第 95 回日本生化学会大会 (2022)
- I-3 佐々木 桂奈江、櫻井 香里、養王田 正文、山地 俊之、花田 賢太郎、吉田 秀郎、甲賀 大輔 電子顕微鏡新技術を駆使したゴルジ体ストレス及び細胞死の解析 第 45 回日本分子生物学会年会 (2022)
- I-4 佐々木桂奈江、森下史、足立拓弥、渡部雄斗、若林貞夫、櫻井香里、養王田正文、山地俊之、花田賢太郎、吉田秀郎 OSW-1 によって起こるゴルジ体ストレスや細胞死はゴルジ体の PI4P によって制御される 第 74 回日本細胞生物学会大会 (2022)
- I-5 三宅 衣織奈、坂本 美憂、小森 亮太、若林 貞夫、佐々木 桂奈江、吉田 秀郎 ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路を制御する転写因子 KLF2 と KLF4 の発現制御機構 第 45 回日本分子生物学会年会 (2022)
- I-6 岡本 明日香、岩崎 洸介、小森 亮太、柱谷 詩織、若林 貞夫、名黒 功、一條 秀憲、佐々木 桂奈江、吉田 秀郎 ゴルジ体ストレス応答 TFE3 経路の制御因子の検索 第 45 回日本分子生物学会年会 (2022)

生命科学専攻

博士前期課程

岡本明日香：ゴルジ体ストレス応答の TFE3 経路の包括的解析

三宅衣織奈：ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路を制御する転写因子 KLF4 の解析

向井田弥来：ゴルジ体ストレス応答ムチン経路の解析

岡植龍：ゴルジ体ストレス応答コレステロール経路による転写制御機構の解析

檀本武澄：ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路の制御因子の検索

柱谷志織：ゴルジ体ストレス応答 TFE3 経路の制御因子の探索

本多一樹：ゴルジ体ストレス応答コレステロール経路の制御因子の解析

田中伶知：ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路の転写因子 KLF2/4 の標的遺伝子の検索

科学研究費補助金等

- 1 革新的先端研究開発支援事業 課題番号23gm1410012h0001 (令和4年度)
研究課題 ゴルジプロテオスタシスの理解と疾患への応用
研究代表者 吉田秀郎

- 2 科学研究費補助金 (基盤研究C) 課題番号 22K06208 (令和4年度)
研究課題 ゴルジ体ストレス応答機構の全容解明
研究代表者 吉田秀郎

- 3 武田科学振興財団 (特定研究助成) (令和4年度)
研究課題 小胞体・ゴルジ体ストレス応答を軸とした新規創薬戦略の基盤構築
研究代表者 吉田秀郎

- 4 東京医科歯科大学難治疾患共同研究拠点共同研究 課題番号2022-国内08 (令和4年度)
研究課題 ゴルジ体ストレス応答と新規オートファジー機構 GOMED の接点から迫る
抗がん剤開発のための基礎研究
研究代表者 吉田秀郎