

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・若林貞夫・谷口麻衣

Yoshida, H., Wakabayashi, S., Taniguchi, M.

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。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ことを見出した。

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、更に脳に多量に存在するガングリオシドなど糖脂質の糖鎖修飾を制御するグリコスフィンゴリピッド経路について、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。予備的な実験から、GGGCGG 様配列がプロテオグリカン経路を制御していることを既に見出している。

また、このようなゴルジ体ストレス応答の各応答経路がアストロサイトなどプロテオグリカンを大量に発現するグリア細胞の分化や、粘膜を多量に産生するゴブレット細胞の分化にどのように貢献しているか検討することによって、ゴルジ体ストレス応答の生理学的機能を明らかにしようとしている。予備的な実験から、アストロサイトに分化する際にプロテオグリカンが大量に産生されるとともに、プロテオグリカン経路が活性化されていることを示唆するデータを得ている。

II 小胞体ストレス応答を調節する

制御因子の機能と構造の解析

Functional and Structural Analysis of Regulatory Factors Controlling the Endoplasmic Reticulum Stress Response

吉田秀郎・若林貞夫
Yoshida, H., Wakabayashi, S.

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。これまでに、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)と pATF6(P)の立体構造解析を中心に研究を進めている。

III 血液凝固線溶制御調節タンパク質の 構造と機能の解析

Analysis of Structure-Function Relationship of Regulatory Proteins of Blood Coagulation and Fibrinolysis

若林貞夫
Wakabayashi, S.

血液凝固線溶の制御調節因子の生理機能の解明を目指して研究を行っている。特に、血中の主要タンパク質の 1 つであるヒスチジンリッチ糖タンパク質 (HRG) の凝固および線溶反応における制御調節因子としての生理機能の解明を目指し、HRG とフィブリノゲンおよびフィブリンとの相互作用部位の解析、および相互作用による凝固反応制御の機構の解析を進めている。また、HRG による T 細胞分化促進に関わる T 細胞表層の HRG 受容体の同定、機構解析も進めている。

発表論文 List of Publications

- I-1 Taniguchi, M., Nadanaka, S., Tanakura, S., Sawaguchi, S., Midori, S., Kawai, Y., Yamaguchi, S., Shimada, Y., Nakamura, Y., Matsumura, Y., Fujita, N., Araki, N., Yamamoto, M., Oku, M., Wakabayashi, S., Kitagawa, H., Yoshida, H. TFE3 is a bHLH-ZIP-type transcription factor that regulates the mammalian Golgi stress response. *Cell Struct. Funct.* 40, 13-30, 2015. 日本細胞生物学会論文賞受賞

- I-2 Sasaki, K. and Yoshida, H. Organelle autoregulation-stress responses in the ER, Golgi, mitochondria and lysosome. *J Biochem.* 157, 185-195, 2015.
- I-3 Taniguchi, M. and Yoshida, H. Endoplasmic reticulum stress in kidney function and disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, in press.
- I-4 吉田秀郎・佐々木桂奈江 「ゴルジ体ストレス応答への招待状」 *実験医学* 33, 1784-1790.
- I-5 吉田秀郎・谷口麻衣 「ゴルジ体ストレス応答と疾患」 *医学のあゆみ* 254, 403-408.
- I-6 Hiderou Yoshida The Golgi stress response maintains proteostasis in the Golgi apparatus by regulating expression of glycosylation enzymes. (EMBO Conference, Heraklion, Greece)
- I-7 Hiderou Yoshida Golgi stress response – autoregulatory system controlling Golgi capacity. (第 67 回日本細胞生物学会大会、タワーホール船堀、東京都)
- I-8 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答による糖鎖修飾の制御」 (第 34 回日本糖質学会、東京大学安田講堂、東京都)
- I-9 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答研究の現状」 (第 10 回小胞体ストレス研究会、淡路夢舞台、兵庫県)
- I-10 吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答による糖鎖修飾酵素の発現制御」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-11 谷口麻衣・山本真由・桐村朋奈・奥田知穂・尾上ひかる・西田真美・宮崎有美・小森亮太・若林貞夫・吉田秀郎 「哺乳類のゴルジ体ストレス応答機構の解析」 (日本生物高分子学会 2015 年度大会、香川大学、香川県)
- I-12 吉田秀郎 「小胞体ストレス応答とゴルジ体ストレス応答」 (第 49 回日本小児内分泌学会学術集会、タワーホール船堀、東京都)
- I-13 荒川佳穂・山本真由・向井美穂・緑佐智子・谷口麻衣・若林貞夫・吉田秀郎 「グリア細胞分化過程におけるゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路の活性化」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-14 西田真実・山本真由・太田香織・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路の標的遺伝子 CSGALNACT2 のプロモーター解析」 (第 38

回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)

- I-15 若林貞夫・太田祐馬・吉川和宏・村田あゆみ・河村優忠・池崎美穂・谷口麻衣・吉田秀郎 「ムチン型糖鎖修飾阻害に対するゴルジ体ストレス応答活性化機構の解明」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-16 桐村朋奈・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のスフィンゴ糖脂質経路はスフィンゴ脂質の糖鎖修飾を制御する」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-17 宮崎有美・大西真駿・山本真由・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路によって転写が誘導される小胞輸送因子遺伝子 STX7 のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-18 谷口麻衣・澤口翔伍・棚倉宗一郎・奥雅弥・若林貞夫・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答の TFE3 経路を制御する転写制御因子 MLX の解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-19 河村優忠・吉川和宏・村田あゆみ・谷口麻衣・若林貞夫・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のムチン経路によって転写が誘導される転写因子 TFE3 のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-20 奥田知穂・緑佐智子・山本真由・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路によって転写が誘導される糖鎖修飾遺伝子 GLCE のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-21 山本真由・緑佐智子・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路によって転写が誘導される糖鎖修飾遺伝子 NDST2 のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-22 池崎美穂・吉川和宏・村田あゆみ・谷口麻衣・若林貞夫・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のムチン経路によって転写が誘導される糖鎖修飾遺伝子 SIAT7B のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-23 尾上ひかる・山本真由・若林貞夫・谷口麻衣・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路によって転写が誘導される糖鎖修飾遺伝子 B3GAT3 のプロモーター解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)
- I-24 小森亮太・谷口麻衣・向井美穂・若林貞夫・吉田秀郎 「ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路により転写誘導される糖鎖修飾遺伝子 HS6ST1 のプロモーター解析」

(第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)

- II-1 植松愛美・田中雄大・谷口麻衣・若林貞夫・吉田秀郎 「小胞体ストレス応答を制御する因子 pXBP1(U)の立体構造解析」 (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県) (第 38 回日本分子生物学会年会、神戸ポートピアホテル、兵庫県)

- III-1 *Hisato Ikegaya, Shiro Suzuki, Satoshi Ichise, Seiko Furuta, Sadao Wakabayashi, Takuji Ohigashi, Daiya Bamba, Hidetoshi Namba, Hiroshi Kihara, Naoyuki Kishimoto & Kuniko Takemoto. Estimation of Organic Carbon Content of the Cyanobacterium Synechococcus sp. by Soft X-ray Microscopy. Geomicrobiology Journal 32, 827-835, 2015*

大学院生命理学研究科

博士前期課程

- 山本 真由：ゴルジ体ストレス応答のプロテオグリカン経路の分子機構
小森 亮太：プロテオグリカン経路の標的遺伝子 HS6ST1 のプロモーター解析
桐村 朋奈：スフィンゴ脂質の糖鎖修飾を制御するゴルジ体ストレス応答経路の同定
荒川 佳穂：グリア細胞分化におけるゴルジ体ストレス応答
プロテオグリカン経路の活性化

科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金（基盤研究C） 課題番号 16K07356（平成 28 年度）
研究課題 プロテオグリカンの糖鎖修飾を制御するゴルジ体ストレス応答経路の解析
研究代表者 吉田秀郎
- 2 科学研究費補助金（特別研究員奨励費） 課題番号15J05492（平成28年度）
研究課題 初期分泌経路オルガネラにおけるカルシウム恒常性破綻に対する
ストレス応答制御
研究代表者 佐々木桂奈江