

## 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・佐々木桂奈江

Yoshida, H., Wakabayashi, S., 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。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。現在は、TFE3 を脱リン酸化する脱リン酸酵素や TFE3 経路のセンサー分子を Genome-wide siRNA library screening によって同定しようとしている。

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している。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 を同定した。現在は、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を GeCKO screening によって同定しようとしている。

## 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)に結合する因子 CK2 $\alpha$  の解析を中心に研究を進めている。また、HRG が敗血症の有力な治療薬となるとの報告を受け、有効活性ドメインの検索準備を進めている。

### 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 Sasaki K, Komori R, Taniguchi M, Shimaoka A, Midori S, Yamamoto M, Okuda C, Tanaka R, Sakamoto M, Wakabayashi S, Yoshida H. PGSE Is a Novel Enhancer Regulating the Proteoglycan Pathway of the Mammalian Golgi Stress Response. *Cell Struct Funct.* (2019) 44:1-19.
- I -2 Hiderou Yoshida. Organelle Zone: Autoregulation of the proteoglycan glycosylation zone by the Golgi stress response. (第 70 回日本細胞生物学会大会、タワーホール船堀、東京都)
- I -3 Jamaludin Mohamad Ikhwan, Kanae Sasaki, Mai Taniguchi, Hirotada Kawamura, Sadao Wakabayashi, Hiderou Yoshida. Promoter analysis of GALNT18 and GALNT5 regulated by Golgi stress response of mucin pathway. (第 70 回日本細胞生物学会大会、タワーホール船堀、東京都)
- I -4 Mai Taniguchi, Ryota Komori, Chiho Okuda, Ryuya Tanaka, Kanae Sasaki, Sadao Wakabayashi, Hiderou Yoshida. Analysis of the proteoglycan pathway of the mammalian Golgi stress response that regulates the transcription of glycosylation enzymes for proteoglycans. (第 70 回日本細胞生物学会大会、タワーホール船堀、東京都)

- I-5 Hiderou Yoshida. The Proteoglycan pathway – a novel pathway of the Golgi stress response. (The 2018 FEBS Golgi meeting, Sorrento, Italy)
- I-6 佐々木桂奈江、小森亮太、谷口麻衣、島岡晶恵、緑佐智子、山本真由、奥田知穂、田中隆也、若林貞夫、吉田秀郎 O型糖鎖修飾能を強化する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新規エンハンサー配列の同定 (第41回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、東京都)
- I-7 田中隆也、山本真由、緑佐智子、佐々木桂奈江、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による NDST2 遺伝子の転写誘導メカニズム (第41回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、東京都)
- I-8 斉藤美知子、井上ちひろ、曾我部将至、若林貞夫、佐々木桂奈江、吉田秀郎 ゴルジ体ストレス応答と抗体産生細胞分化 (第41回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、東京都)
- II-9 若林貞夫、河村優忠、吉川和宏、佐々木桂奈江、谷口麻衣、吉田秀郎 ムチン糖鎖付加阻害によるゴルジ体ストレスでTFE3の発現が活性化される (第91回日本生化学会大会、国立京都国際会館、京都)

## 大学院生命科学研究科

### 博士前期課程

田中 隆也：プロテオグリカン経路の標的遺伝子 NDST2 のプロモーター解析

### 博士後期課程

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

Ikhwan Jamaludin：Transcriptional regulation of the human GALNT5 and 18 gene by the mucin pathway of the Golgi stress response.

## 科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金 (新学術領域研究) 課題番号17H06414 (平成30年度)
  - 研究課題 ミトコンドリア、ゴルジ体に関連する応答ゾーン、連携ゾーン解析
  - 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 16K07356 (平成30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
- 3 日本学術振興会 二国間交流事業 (平成30年度)
  - 研究課題 抗体産生細胞分化におけるゴルジ体ストレス応答の解析
  - 研究代表者 吉田秀郎
- 4 科学研究費補助金 (若手研究B) 課題番号17K15122 (平成30年度)
  - 研究課題 プロテオグリカンのO型糖鎖修飾能を強化するゴルジ体ストレス応答の転写制御機構
  - 研究代表者 佐々木桂奈江
- 5 科学研究費補助金 (特別研究員奨励費) 課題番号17J00067 (平成30年度)
  - 研究課題 ゴルジ体ストレス応答プロテオグリカン経路の解析
  - 研究代表者 小森亮太