

No.	24-2106	
Project Title	イメージングとプロテオミクスを基盤とした構造不良タンパク質群の動態解明	
Principal Investigator	Hiroyuki Kawahara (Tokyo Metropolitan University・Professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Yasushi Saeki (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	川原裕之 (東京都立大学 理学部・教授)
	Project Member (s)	横田直人 (東京都立大学 理学部・助教)
	Project Member (s)	岩佐康之 (東京都立大学 理学部・博士課程大学院生)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

研究課題名：「イメージングとプロテオミクスを基盤とした構造不良タンパク質群の動態解明」

新合成されたタンパク質集団には、不良品ポリペプチドが多く含まれる。これらは、癌免疫・ウイルス免疫・神経変性疾患の発症と深く関わっている (Suzuki & Kawahara, *EMBO Rep.* 2016; Kessler *et al.*, *Nature* 2023; Hartl *et al.*, *Cell* 2023; Ellledge *et al.*, *Mol. Cell* 2023)。不良タンパク質の生成と分解を司るシステムは各種疾患と密接に関連するが、不良タンパク質の全貌は未だ明らかにされていない。そこで我々は、東京大学医科学研究所タンパク質代謝制御分野の佐伯泰教授グループとの共同研究において、同研究所国際共同利用・共同研究拠点事業に採択いただくことによって、以下の成果を得たので報告する。

我々は、不良タンパク質を生細胞内で捕捉可能な新たなプローブTanGIBLEを開発し、いくつかのモデル不良タンパク質の細胞内動態を生化学的手法により解析してきた。そこで、本共同研究で、東京大学医科学研究所を拠点とした先端的质量分析技術とTanGIBLEプローブとを融合させることにより、不良タンパク質の実態を解明し、不良ポリペプチドが寄与する疾患発症の分子機構解明に寄与することを目指した。

共同研究の結果、TanGIBLEの標的となる細胞内在性不良タンパク質候補を1000種以上同定することに成功した(*J. Cell Biol.*, 2025)。これらの成果を基盤に、現在、多様なタンパク質複合体形成に関わるサブユニット群を抽出し、これらが実際にTanGIBLEの標的になっているかについて検討を進めている。特にプロテアソーム複合体形成に関わるシャペロン複合体PSMG1/PSMG2に着目し、一方をノックダウンした場合に他方が受ける影響、ならびにプロテアソーム複合体形成に与える影響を、TanGIBLEを用いた免疫沈降や細胞内凝集体形成アッセイ・イメージング実験などにより解析中である。このように、本共同研究で取り組んでいる実験は、オーファン化した新合成ポリペプチドの全貌解明に大きく寄与することが考えられる。

さらに我々は、オルガネラターゲティングシグナルを付加した改変型TanGIBLEの開発にも取り組んだ。核局在化シグナル配列を付加したTanGIBLE(NLS-TanGIBLEと命名)を新しく構築し、これ培養細胞に発現させ、単離核抽出液からNLS-TanGIBLEを免疫沈降法により回収する。これに含まれるNLS-TanGIBLEの標的分子群を、タンパク質代謝制御分野の佐伯泰教授・富田拓哉博士のご協力を得て、タンパク質代謝制御分野設置の高分解能質量分析計 Orbitrap Fusion Lumosを用いた解析を行った。その結果、核特異的に発現するユビキチンリガーゼ、ならびにその潜在的な基質候補群をNLS-TanGIBLEの標的として幾つか同定することに成功した。現在、これらの核内不良タンパク質候補、ならびに核内タンパク質品質管理を差配する新規メカニズムの解明を目指して研究を進めている。

今後、東京大学医科学研究所 佐伯 泰教授のご指導のもと、新プローブTanGIBLEを用いて、各細胞内オルガネラに生じる不良タンパク質の網羅的同定に挑んでいく計画である。