

加藤たん白生態プロジェクト



総括責任者 加藤 誠志
((財)相模中央化学研究所 主席研究員)
研究期間 1995年10月～2000年9月

細胞を構成している未知の蛋白質ネットワークを解明するために、ある特定の活性を手掛かりに蛋白質を探索するという従来のアプローチではなく、まず機能未知の蛋白質をそろえてから、それらの機能を探索するというアプローチを試みました。すなわち、ヒト完全長 cDNA バンクを出発材料にして、新規 cDNA がコードしている蛋白質をインビトロ翻訳や細胞内発現によって実際に手にした後、それらの蛋白質の細胞内局在部位の決定や相互作用する蛋白質の探索を通じて新しい蛋白質ネットワークを見つけしていくというやり方です。

その結果、細胞周期を制御している新しい蛋白質修飾経路、転写機構に関する新しい核蛋白質複合体、細胞内蛋白質の新規糖鎖修飾など、新しい蛋白質ネットワークを見つけることができました。本プロジェクトによって試行されたアプローチは、ポストゲノムシーケンス時代の分子細胞生物学研究において威力を発揮することが期待されます。

成果

蛋白質の新規修飾系 NEDD8 経路の発見

ユビキチン様蛋白質 NEDD8 がカリンファミリーの蛋白質群に共有結合する新規修飾経路を見いだした。さらに、NEDD8 化がユビキチンリガーゼの活性調節を介して細胞周期の制御に関与していることを分裂酵母を用いて証明した。

WW ドメインを介する新規核蛋白質複合体の発見

機能未知のヒト完全長 cDNA の中から WW ドメインを含む新規核蛋白質 Npw38 並びにこれと結合する RNA/DNA 結合蛋白質 NpwBP を同定し、これらの蛋白質の相互作用が WW ドメインと新規モチーフの結合を介して起こることを解明した。

細胞内蛋白質の新規糖鎖修飾の発見

細胞質クレアチンキナーゼの Ser、Thr 残基が O-グルコシルーションを受けていることを見いだした。この結果は、細胞内蛋白質の新しい糖鎖修飾機構の存在ならびにそれによる機能制御の可能性を示唆するものである。

ヒト完全長 cDNA クローンの大規模局在解析

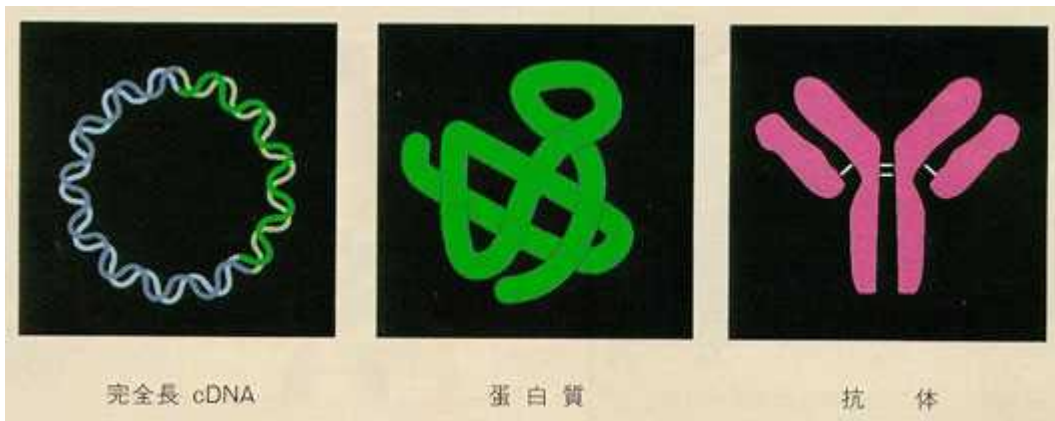
ヒト完全長 cDNA クローンとウロキナーゼ cDNA や緑色蛍光蛋白質 cDNA の融合遺伝子発現による局在解析を行い、新規 II 型膜蛋白質、新規スプライセオソーム構成成分、新規 RNA ヘリカーゼ、不死化細胞特異的核蛋白質などを含む多くの新規蛋白質の同定に成功した。

cDNA 免疫による抗体作製

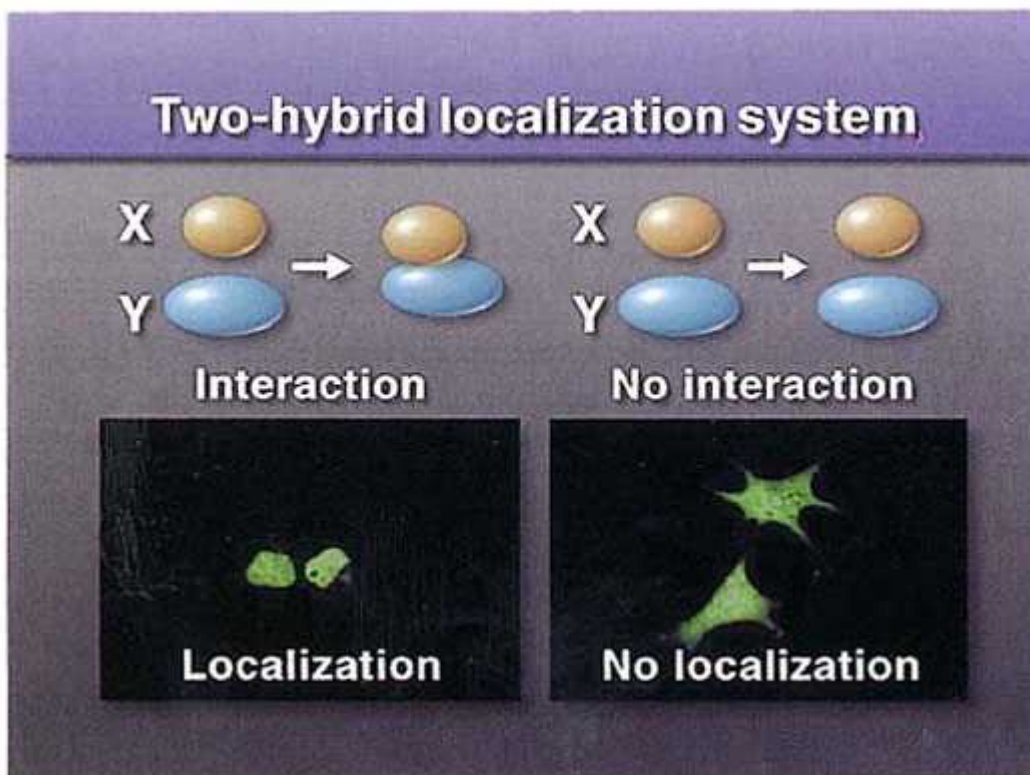
ヒト完全長 cDNA 発現ベクターを注射や遺伝子銃でネズミに投与するだけで、cDNA がコードしているヒト蛋白質に対する抗体が作れることを実証した。さらに、抗体産生効率を上げるための手法を開発した。

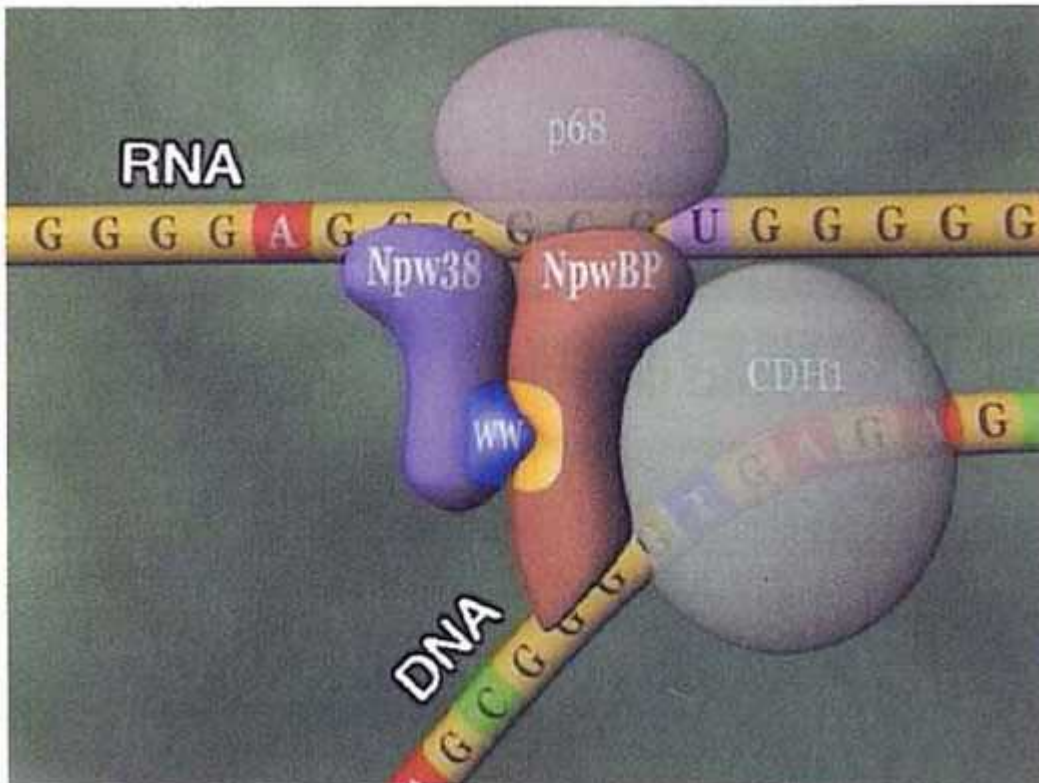
2 ハイブリッド局在化法による蛋白質間相互作用の検出

蛋白質-蛋白質相互作用を、細胞内で同時発現させた蛋白質の局在の変化を見ることによって検出する方法を開発した。本法を用いれば、蛋白質間の結合を細胞内の環境下で、迅速にかつ視覚的に判定できる。



▲蛋白質ネットワーク解明のための工具箱





研究成果

- [研究成果ビデオ](https://www.jst.go.jp/erato/research/old.html)
<https://www.jst.go.jp/erato/research/old.html>
- [研究成果集](https://www.jst.go.jp/erato/research_area/completed/kts_pj/results_1995-2000_kato.pdf)
https://www.jst.go.jp/erato/research_area/completed/kts_pj/results_1995-2000_kato.pdf
- [論文リスト](https://www.jst.go.jp/erato/research_area/completed/kts_pj/publications_1995-2000_kato.pdf)
https://www.jst.go.jp/erato/research_area/completed/kts_pj/publications_1995-2000_kato.pdf