

人工細胞を用いた神経疾患の解析

～細胞を創る～

工学研究科 応用化学専攻

◎M1 かんざわくうる 神澤空流、助教 まちだこうだい 町田幸大、教授 いまたかひろあき 今高寛晃

キーワード

タンパク質フォールディング, タンパク質凝集, シャペロン, リボソーム

研究概要

我々は HeLa 細胞抽出液由来のセルフリータンパク質合成システムを利用して、細胞内で生じるハンチントンタンパク質 (polyQ タンパク質) の凝集を再現し、その凝集がヒトの分子シャペロン Hsc70system (Hsc70, Hsp40, Hsp110) や CCT の「コトランスレーショナル」な作用によって顕著に抑制されることを明らかにしてきている。しかしながら、細胞抽出液由来のタンパク質合成システムは、細胞質に存在する核以外の内在性因子をほぼ全て含有するため、新生 polyQ の凝集が、分子シャペロンのどのような働きによって抑制されるのかを解明するには至っていない。また、フィルタートラップという生化学的解析法を用いているため細胞で観察されている凝集体と同一のものを観察しているのかどうか不明であった。

そこで本研究では、ヒトのタンパク質合成に必要な最小限の翻訳因子のみを精製し試験管内で混合した「再構成型タンパク質合成システム」を細胞サイズの GUV に内包することにより再構成型細胞を構築した。そして、この GUV 内で polyQ タンパク質の凝集と分子シャペロンによる凝集抑制の分子機構の解明を目指した。

具体的には、界面通過法を用いて再構成型タンパク質合成システムを細胞サイズの GUV に内包し、その内部で新生 (合成) した polyQ タンパク質の凝集と分子シャペロンによる凝集抑制の様子を共焦点顕微鏡観察によって解析した。凝集の検出を容易にするために、長さの異なる polyQ に GFP を融合させたコンストラクトを作成し、GFP 蛍光を観察した。GUV 内で GFP、25Q-GFP を合成した場合は polyQ-GFP 由来の凝集体は観察されなかったが、96Q-GFP を合成した場合、生きた細胞内で 96Q-GFP を合成した時の凝集体とほぼ同じ大きさの凝集体が観察された。GUV 内部には、精製した翻訳関連因子しか存在しないため、長鎖 polyQ 由来の凝集体形成は、polyQ タンパク質の自己凝集によるものと示唆された。

現在は、各種 polyQ タンパク質の変異体と分子シャペロンを利用した解析も進めており、本発表ではこれら最新の結果についても併せて報告する。

アピールポイント

細胞は切り詰めれば個々の生体分子からできています。逆に考えると、それらの分子をうまく組み合わせれば細胞ができるかも知れません。我々はこのボトムアップ的手法で人の細胞を再構築し、様々な病態モデルを確立していこうと考えています。