

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
令和元（2019）年度共同研究者派遣実施報告書

[研究分野： ① 細胞・分子]

1. 所属機関・職名・氏名：理化学研究所タンパク質構造疾患チーム・研究員・小見悠介
2. 研究課題名：光ピンセットを使った神経変性疾患に関連する新生ポリペプチド鎖のフォールディングに関する研究
3. 米国側研究機関・共同研究者：
カリフォルニア大学バークレー校・ブスタマンテ カルロス教授
4. 派遣期間：西暦 2019年6月13日～ 2020年 1月14日

5. 研究の概要、成果および意義（1000字）：

神経変性疾患は、神経細胞内でその疾患原因となるタンパク質の凝集やアミロイド化により引き起こされる。これらの疾患の予防や治療には、どのような原因でタンパク質のミスフォールディングやアミロイド化が引き起こされるかを理解する事が重要である。タンパク質の合成はリボソームで行われるが、これまで、リボソーム上でのタンパク質のフォールディングやミスフォールディングについてあまり注目されてはいなかった。近年の研究では、リボソーム上で作られているタンパク質（新生鎖）がリボソームと相互作用し、ミスフォールディングや凝集体形成を引き起こす事が示唆されており、リボソーム上での新生鎖のフォールディングやミスフォールディングの研究は、神経変性疾患等のタンパク質のミスフォールディングが引き起こす病態の解明に重要となる。

本研究ではヒト翻訳システムを使用し、ヒトリボソームによる翻訳途中の新生鎖の構造の変化を光ピンセットにより計測する測定系の立ち上げを目指した。初めに、ヒト翻訳システムが光ピンセットの系で使えるかを確認するため、派遣先の研究室で良く確立されたリアルタイムでの翻訳測定をヒト翻訳システムを用いて測定、ヒト翻訳システムを使ったリアルタイム翻訳の測定に成功した。この系では新生鎖を掴まないため、その構造変化は測定できない。そこで新たに新生鎖の構造変化を測定するため、新生鎖を光ピンセットにより捕捉するためのmRNAコンストラクトを作製した。このmRNAは、新生鎖を掴むために必要な翻訳の一時停止を光ピンセットで確認できるように2つのヘアピン構造を持ち、特定のアミノ酸を翻訳システムより抜く事で翻訳を一時停止させる。翻訳停止時に片方のヘアピン構造のみが壊れるようにコドン配列を配置しているため翻訳の一時停止の可否を確認できる。光ピンセットで掴める様に新生鎖のN末端にAvi-tagを配置した。今回、mRNAのみを引っ張ることで、2つのヘアピン構造を確認できたが、翻訳の一時停止をさせ、新生鎖とmRNAで引っばった場合、ヘアピン構造の消失が確認できなかった。新生鎖とmRNAとで掴むことができていることから、リボソームが目的の部分で一時停止していない可能性が高く、今後の課題となる。本派遣で得られた結果は、ヒトリボソームによる翻訳途中のタンパク質のフォールディングやミスフォールディングの解明に向けた大きな前進となる。

6. その他（実施上の問題点、特記事項）

特にありません。 米国での共同研究という大変貴重な経験をさせていただき、心より感謝申し上げます。

◎参考資料があれば、添付ください。