

課題番号 26

ガン細胞にみられる解糖系の亢進(Warburg 効果)の発生機構の解明

[1] 組織

代表者：増本 博司

(長崎大学・医学部共同利用研究センタ

ー)

対応者：安井 明

(東北大学加齢医学研究所)

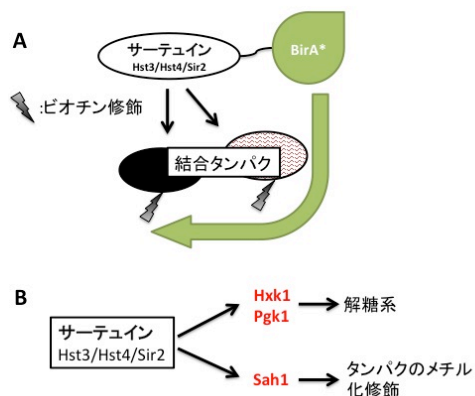
研究費：物件費 21 万 9 千円，旅費 8 万 1 千円

[2] 研究経過

多くのガン細胞でみられる解糖系の亢進（通称 Warburg 効果）は、低酸素条件下でガン細胞が増殖するために必要な代謝産物（核酸、アミノ酸等）を供給する役割を持つことが知られている。Warburg 効果のような解糖系の恒常的な活性化機構を明らかにすることは、グルコース代謝経路の抑制を標的とする抗癌治療法の確立にもつながる。

本研究では解糖系の活性化に関与する出芽酵母サーテュイン（NAD⁺依存性デアセチラーゼ）に着目した。本研究期間内でサーテュイン Hst3, Hst4 および Sir2 と結合する代謝酵素を同定し、代謝酵素へのアセチル化修飾による解糖系の制御機構の解明を試みた。

図1: BirA*を利用したサーテュイン(出芽酵母 Hst3/Hst4/Sir2)の結合タンパクの同定



まずサーテュインの細胞内で結合するパートナータンパクの同定を試みた。サーテュインタンパクと大腸菌ビオチン修飾酵素 BirA との融合タンパクを

細胞内で発現させ、サーテュインと結合し BirA でビオチン修飾を受けるタンパクを精製し、質量分析法を使ってタンパク同定を行なった (図 1A)。

質量分析機器を使ったタンパク同定の技術情報の交換のため、2016 年 1 月に東北大学加齢医学研究所内の対応者である安井 明教授の元を訪問し、タンパク同定技術指導を受けたほか、2016 年 2 月には加齢研の菅野新一郎講師が長崎大学を訪問され、共同研究に対して様々な提案をしていただいた。また質量分析解析に必要な試薬類の供与を受けた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果 (図 1B)

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、ビオチン修飾を利用したサーテュイン(出芽酵母 Hst3, Hst4)結合タンパクとして、Hxk1, Pgc1 の 2 種類の解糖系代謝酵素が同定された。これらのタンパクは *hst3 hst4 sir2* 三重欠損株において有意にアセチル化されていることが明らかになっており、Hst3, Hst4 と結合し脱アセチル化基質である可能性が高い。

第 2 に解糖系代謝酵素以外にサーテュイン結合タンパクとして Sah1 が同定された。Sah1 はタンパクのメチル化基質である S-アデノシルメチオニン (SAM) の合成に関与する。上記と同様に *hst3 hst4 sir2* 三重欠損株でも Sah1 有意にアセチル化されていることが明らかになっており、Hst3, Hst4 と結合し脱アセチル化基質である可能性が高い。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究で使用した BirA*酵素によるタンパクのビオチン化修飾は、現在の生化学解析技術では検出が難しいタンパク間の相互作用を検出できる優れた方法である(Roux, L.J. et al., (2012) *JCB*)。本共同研究においては BirA*と融合タンパクをグリシンポリマーで連結することで、BirA*タンパクの空間的自由度を広げた。その結果様々なタンパクとの相互作用を検出することができた。

開発した BirA*修飾システムはタンパクタータンパクだけでなく、タンパクタークロマチン間の相互作用の検出にも応用できる。この手法によってクロマチン結合因子のクロマチン結合位置を特定し、時間経

過によってクロマチン上を移動していくことをリアルタイムで検出することも可能となる。

BirA*を用いたタンパク間相互作用の検出システムは当初ヒト培養細胞で開発されていた。本研究でも安井明教授の研究グループと培養細胞でも簡単にBirA*融合タンパクを使ったタンパク間相互作用検出システムの開発を行なっている。本共同研究により酵母やヒト培養細胞を使ったビオチン化修飾を利用したタンパク間相互作用検出システムを開発できる。本システムはタンパク間、タンパクークロマチン間の相互作用によって駆動される様々な生命現象、その相互作用の欠損によって引き起こされる疾病の解明に寄与することが期待される。

[4] 成果資料

平成27年度内の論文掲載なし。