

■ はじめに

マイクロプロテイン(miP)とは、100残基未満のアミノ酸で構成される単一ドメインの小さなタンパク質の総称である。人、動物、植物等の真核生物から、細菌や酵母などの単細胞生物を含む原核生物まで、全ての細胞中に存在する。300ヌクレオチド未満の短いオープンリーディングフレーム(small open reading frames, sORF)から翻訳されたのち、主に細胞内の他の大きなタンパク質と協同して働く。これまで、細胞の成長、DNAの修復、代謝、細胞死など、様々な機能と関連する事が示唆されている。また、サイズが小さいマイクロプロテインは迅速な翻訳が可能のため、コールドショック、ヒートショックなどのストレス応答もサポートしている事が推定されている。

近年、大規模なマイクロプロテイン解析が実施されるようになり、多数のあらたなマイクロプロテインが同定されている。しかし、一部を除き、それらの生物学的機能についてはほとんど明らかにされていない。そこで本研究は、機能未知のマイクロプロテインの機能解明を促進するための新たな方法論を確立することを最終目標として、まず、比較的研究が進んでいる大腸菌のマイクロプロテインを対象にして、その同定と機能解析に関する現状を調査した。

■ 活動内容

1. 大腸菌マイクロプロテインの同定

技術の革新により、ゲノム及びタンパク質レベルで、多数のマイクロプロテインが同定されている。

●ゲノムレベル

問題点:マイクロプロテインの配列は規則性が欠けているため、従来の情報解析法でsORFを正確に識別することは困難であった。

新手法:トランスクリプトーム解析(RNA-seq)、リボソームプロファイリング解析、バイオインフォマティクスツール(phyloCSFやmiPFinder)などを駆使した新しいアプローチが登場。

●タンパク質レベル

問題点:マイクロプロテインのサイズは小さいので、標準的な生化学的手法での検出が困難であった。

新手法:エピトープタグで発現および精製、ストレス誘導下の質量分析法(MS)の活用。

2. 大腸菌マイクロプロテインの機能

モデル生物である大腸菌K-12株では、50アミノ酸未満

のマイクロプロテインが150個同定されている。そのうち、機能既知は50個である。大部分はストレス応答に役割を果たしていると考えられている。しかし、他の100個の機能は不明である。このように、機能既知のマイクロプロテインの数は限られているが、これらのタンパク質は重要な細胞機能の調整に役割を果たすと推定されている。

●細胞内のマイクロプロテイン

(1)発現調節機能

マイクロプロテインの翻訳は下流遺伝子の翻訳または転写を促進或いは制限する可能性がある。

(2)リボソームタンパク質

リボソームタンパク質の欠損時に、マイクロプロテインがリボソームタンパク質の代用品として置き換わる可能性がある。

●細胞膜のマイクロプロテイン

大部分のマイクロプロテインは膜貫通 α ヘリックスモチーフを含むので、他の膜タンパク質と相互作用して、イオンチャネル、ミトコンドリア膜電位、呼吸、脂肪酸酸化、細胞間の物質交換、細胞の成長等の機能に関与する可能性がある。

3. 展望

マイクロプロテインは小さいが、重要な調整機能が持つ事が示唆されている。サイズが小さいので合成が容易になることから、製薬やゲノム編集のターゲットとしての品種改良等様々な応用が期待されている。

現在、新しいsORFを推定し、マイクロプロテインの発現を確認する技術は確立されており、多くのマイクロプロテインが同定されている。しかし、これらの新たに同定されたマイクロプロテインの機能は未知のままである。モデル生物である大腸菌を利用して、マイクロプロテインの機能解析を行う基盤研究は、他の生物のマイクロプロテインの発見と機能解析の研究にも貢献できる。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

[1] Hemm, Matthew R., Jeremy Weaver, and Gisela Storz. "Escherichia coli small proteome." *EcoSal Plus* 9.1 (2020).

[2] Makarewicz, Catherine A. "The hidden world of membrane microproteins." *Experimental Cell Research* 388.2 (2020): 111853.

代表発表者
所属

劉 佳 (りゅう じゃ)
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
バイオメディカル研究部門
分子細胞デザイン研究グループ
〒305-8566 茨城県つくば市東1-1-1
つくば中央第六事業所
TEL: 029-861-6001
ryuu.jia@aist.go.jp

問合せ先

■キーワード: (1)マイクロプロテイン
(2)タンパク質
(3)大腸菌

■共同研究者: 本田 真也
産業技術総合研究所