

理学専攻
生物・環境化学分野

生命工学研究室
Bioengineering Lab.

教授
Prof.

日高雄二
Yuji Hidaka

キーワード

立体構造形成、ウログアニリン、シャペロン、
ペプチド、ジスルフィド
folding, uroguanylin, chaperone, peptide, disulfide

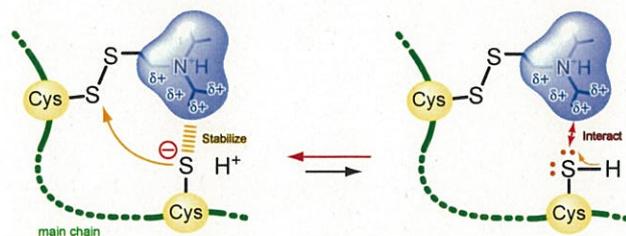
研究内容

[1] 分子内シャペロンによるペプチドホルモンの 生理活性成熟化機構

我々は、これまでに、ペプチドホルモン前駆体であるプロウログアニリンのX線結晶構造解析および部位特異的変異体の立体構造形成反応の詳細な分析から、「ペプチドホルモン前駆体蛋白質の立体構造形成が、成熟体であるペプチドホルモンの局所的な生理活性部位の立体構造の安定化に相関がある」ことを明らかにした。更に、ペプチドホルモンの分子進化を抑制する構造因子を発見するに至った。これらは、分子進化において不明であった、生理活性構造成熟化の指標を明らかにする上で重要な意味を持つ。

[2] ジスルフィド含有タンパク質の立体構造形成の制御

試験管内におけるジスルフィド結合含有蛋白質・ペプチドの立体構造形成は、様々なジスルフィド中間体（異性体）を経由して最終構造である天然型に移行する。この反応の律速段階はジスルフィド異性化反応と考えられており、その反総速度が遅いと反応中間体の沈殿形成が促進し、結果として天然型の回収率が低くなる。我々は、このジスルフィド異性化反応を促進する為、汎用されるグルタチオン酸化還元系を基に、様々な還元試薬について検討を行ってきた。



その結果、反応中間体に存在する交差ジスルフィド結合体の不可分子に正電荷を導入して反応活性を上昇させることで、天然型のジスルフィド結合体の生成を効率よく加速できることを明らかにした（上図）。これらの成果は、大腸菌発現系におけるインクルージョンボディなどからのリフォールデ

ィング反応への応用が可能であり、グルタチオン酸化還元系よりも遥かに高効率の立体構造形成反応系を与えるものである。

[3] ジョロウグモ由来人工牽引糸の作成および分解反応

アミロイド線維形成のモデルとして、ジョロウグモ牽引糸の構成蛋白質について、人工アミロイド線維の形成と線維形成機構の解明、及びその分解酵素の検索を行っており、つい最近、ジョロウグモから自身の糸を分解するための強力な蛋白質分解酵素を同定することができた。本酵素は、アルツハイマー疾患のβ-アミロイドを分解できる能力を持つことが期待される。

最近の業績

- 1) Okumura, M., Shimamoto, S., Nakanishi, T., Yoshida, Y., Konogamii, T., Maeda, S., and Hidaka, Y. Effects of positively charged redox molecules on disulfide-coupled protein folding. *FEBS Letters* 586(21), 3926-3930 (2012)
- 2) Yuji Hidaka, Disulfide-coupled protein folding: Looking back, Looking forward. *FEBS Journal*, 279(13), 2261-2261(2012)
- 3) Mishra, P., Qiu, Q., Gruslin, A., Hidaka, Y., Mbikay, M., and Basak, A. In vitro regulatory effect of epididymal serpin CRES on protease activity of Proprotein Convertase PC4/PCSK3. *Current Molecular Medicine*, 12, 1050-1066 (2012)
- 4) Okumura, M., Shimamoto, S. and Hidaka, Y., Chemical Method for investigating disulfide-coupled peptide and protein folding, *FEBS Journal*, 279(13), 2283-2295 (2012).
- 5) Saiki M., Hidaka, Y., Nara, M. and Morii, H. Stem-forming regions that are essential for the amyloidogenesis of prion proteins, *Biochemistry*, 51, 1566-1576 (2012)
- 6) Okumura, M., Saiki, M., Yamaguchi, H. and Hidaka, Y., Acceleration of Disulfide-Coupled Protein Folding Using Glutathione Derivatives, *FEBS Journal*, 278, 1137-1144 (2011).
- 7) Hidaka, Y., Kontani, K., Taniguchi, R., Saiki, M., Yokoi, S., Yukuhiro, K., Yamaguchi, H. and Mitsuhiro Miyazawa Fiber Formation of a Synthetic Spider Peptide Derived from *Nephila Clavata*, *Biopolymers*, 96, 222-227 (2011)

- 科学研究費 基盤研究 (C) 分担 (平成16-19年度 434万円)
- 科学研究費 基盤研究 (C) 分担 (平成20-23年度 455万円)
- 科学研究費 基盤研究 (C) 分担 (平成24-27年度 559万円)
- 科学技術振興機構 ALCA (平成23-24年度) (130万円)