

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18076004

研究課題名（和文） ユビキチン系による選択的基質識別メカニズム

研究課題名（英文） Mechanism underlying selective substrate recognition by the ubiquitin system

研究代表者

岩井 一宏 (IWAI KAZUHIRO)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号：60252459

研究分野：生化学・細胞生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：ユビキチン、タンパク質分解

1. 研究計画の概要

ユビキチン-プロテアソーム系は、時空間的な特異性を持って基質タンパク質を識別して次々ユビキチンを付加してポリユビキチン鎖を形成し、形成されたポリユビキチン鎖がプロテアソームの識別シグナルとなって、基質タンパク質を分解に至らしめる。本研究では基質ユビキチン化からプロテアソームによる分解へと至る経路の解析を進めている。

2. 研究の進捗状況

ユビキチンリガーゼの最も大きなサブファミリーである、Cullin型ユビキチンリガーゼ(CRL)を中核として解析を進めた。ユビキチン様モディファイヤーであるNedd8はCRLを活性化することが知られていたが、Nedd8はCullinへの結合により、CRLによる基質へのユビキチン付加を促進することと構造的基盤を明らかにし、分子レベルでNedd8の役割を明らかにした。

さらに、COP9/シグナロソーム(CSN)によるCRLの活性亢進メカニズムを解析した。CSNが基質に結合したポリユビキチン鎖とNedd8の両者を識別してCRLと結合した後、ユビキチン化基質をCRLから解離を促進する。基質がCRLから解離した後で、CRLはCullin-Nedd8結合を切断してCRLから遊離することを明らかにした。本研究の結果、詳細が不明であったCSNによるCRL活性化機構の一端が明らかとなった。すなわち、CRLへのNedd8結合が基質へのポリユビキチン鎖形成を促進し、それに引き続く、Nedd8を指標としたCSNのCRLへの結合が、ポリユビキチン化された基質をCRLから解離させ、CRLがユビキチン化する基質の分子数を増大させることでCRLを活性化させること、言い換え

れば、Nedd8とCSNは相互補完的な形で基質タンパク質のユビキチン化を促進させることが明らかになった。

E3によってユビキチン化された基質のプロテアソームへの運搬機構についても解析を進め、ユビキチン鎖結合タンパク質RPN-10とU-boxユビキチンリガーゼUFD-2とが共同して細胞分化運命の決定に寄与している事を示した。さらに、研究者らが新規に同定した直鎖状ポリユビキチン鎖の機能解析を進め、IKK複合体の構成成分の1つであるNEMOがシグナル依存的に直鎖状ポリユビキチン化されることが、NF- κ Bの活性化に関与することを示した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

CRLによりユビキチン化された基質がプロテアソームによる効率的な分解に導かれる経路の同定が進み、選択的に識別された基質を効率的に分解へ導く機構の同定に大きく貢献している。

4. 今後の研究の推進方策

ユビキチン系に識別された基質は効率的にポリユビキチン化されることが、基質の効率的な分解に必須である。そこで、本研究の後半ではポリユビキチン鎖生成メカニズムの解析を進めるとともに、ポリユビキチン化された基質のプロテアソームへの運搬機構の解析を進め、ユビキチン化から分解に至る経路の同定を目指す。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計12件)

1. Tokunaga, F., Sakata, S.-I., Saeki, Y., Satomi, Y., Kirisako, T., Kamei, K., Nakagawa, T., Kato, M., Murata, S., Yamaoka, S., Yamamoto, M., Akira, S.,

- Takao, T., Tanaka, K. and Iwai, K.
Involvement of linear polyubiquitination of NEMO in NF- κ B activation. **Nature Cell Biology** 11:123-132, (2009).
2. Sato, Y., Yoshikawa, A., Yamagata, A., Mimura, H., Yamashita, M., Ookata, K., Nureki, O., Iwai, K., Komada, M., and Fukai, S. Structural basis for specific cleavage of Lys63-linked polyubiquitin chains. **Nature** 455:358-362, (2008).
 3. Miyauchi, Y., Kato, M., Tokunaga, F., Iwai, K. The COP9/signalosome increases the efficiency of pVHL ubiquitin ligase-mediated hypoxia inducible factor- α ubiquitination. **J. Biol. Chem.** 283: 16622-16631 (2008)
 4. Shabek, N., Iwai, K., Ciechanover, A. Ubiquitin is degraded by the ubiquitin system as a monomer and as part of its conjugated target. **Biochem Biophys Res Commun.** 363: 425-431 (2007)
 5. Zenke-Kawasaki, Y., Dohi, Y., Katoh, Y., Ikura, T., Ikura, M., Asahara, T., Tokunaga, F., Iwai, K., Igarashi, K. Heme induces ubiquitination and degradation of the transcription factor Bach1. **Mol. Cell Biol.** 27: 6962-6971 (2007)
 6. Minami, R., Shimada, M., Yokosawa, H., Kawahara, H. Scythe regulates apoptosis through modulating ubiquitin-mediated proteolysis of XEF1AO. **Biochem. J. (London)** 405: 495-501 (2007)
 7. Hamazaki, J., Sasaki, K., Kawahara, H., Hisanaga, S., Tanaka, K., Murata, S. Rpn10-mediated degradation of ubiquitinated proteins is essential for mouse development. **Mol. Cell Biol.** 27: 6629-6638 (2007)
 8. Yoshida, Y., Murakami, A., Iwai, K., Tanaka, K. A neural-specific F-box protein Fbs1 functions as a chaperone suppressing glycoprotein aggregation. **J. Biol. Chem.** 282: 7137-7144 (2007)
 9. Sakata, E., Yamaguchi, Y., Miyauchi, Y., Iwai, K., Chiba, T., Saeki, Y., Matsuda, N., Tanaka, K., Kato, K. Direct interactions between Nedd8 and ubiquitin E2 conjugating enzymes contribute to up-regulation of cullin-based E3 ligase activity. **Nature Struct. Mol. Biol.** 14: 167-168 (2007)
 10. Nakamura, M., Tokunaga, F., Sakata, S.-I., Iwai, K. Mutual regulation of conventional protein kinase C and a ubiquitin ligase complex (LUBAC). **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 351: 340-347 (2006)
 11. Kirisako, T., Kamei, K., Murata, S., Kato, M., Fukumoto, H., Kanie, K., Sano, S., Tokunaga, F., Tanaka, K., Iwai, K. A ubiquitin ligase complex assembles linear polyubiquitin chains. **EMBO J.** 25: 4877-4887 (2006)
 12. Shimada, M., Kanematsu, K., Tanaka, K., Yokosawa, H., Kawahara, H. Proteasomal ubiquitin receptor RPN-10 controls sex determination in *Caenorhabditis elegans*. **Mol. Biol. Cell** 17: 5356-5371 (2006)
- [学会発表] (計 4 件)
1. Tokunaga, F., Sakata, S.-I., Kirisako, T., Nakagawa, T., Murata, S. Tanaka, K. and Iwai, K. Linear ubiquitination of NEMO triggers NF- κ B activation. The EMBO Conference "Ubiquitin and Ubiquitin-like Modifiers in Cellular Regulation" Riva Del Garda September 22-26, 2007 Italy.
 2. Miyauchi, Y., Kato, M., Tokunaga, F., Iwai, K. The COP9/Signalosome increases the efficiency of pVHL-containing ubiquitin ligase-mediated HIF- α ubiquitination. ZOMESV: November 11-14, 2008 Yokohama, Japan.
 3. Iwai, K., Prevention of TNF- α induced apoptosis by linear polyubiquitination. The 15th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience "Cell Death: What have we learned and what will we learn?" December 2-3, 2008 Tokyo, Japan.
 4. Iwai, K., Physiological function of linear polyubiquitin chain. Keystone Symposium "The Many Faces of Ubiquitin" Jan 11-16, 2009 Copper Mountain Resort, CO, USA
- [図書] (計 1 件)
1. Lorick, K., Yang, Y., Jensen, J., Iwai, K. and Weissman, A.M. Studies of the ubiquitin proteasome system. Units 15.9 Sections 1-12. **Current Protocols in Cell Biology** Bonifacino J, Dasso M, Lippincott-Schwartz J, Harford J, Yamada K, Bonifacino J eds. John Wiley and Sons 2006.
- [産業財産権]
○ 出願状況 (計 0 件)
○ 取得状況 (計 0 件)
[その他]
ホームページ
<http://www.cellbio.med.osaka-u.ac.jp/>