

平成30年6月25日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14699

研究課題名(和文) テイルアンカー蛋白質の生合成マシナリー破綻が導く蛋白凝集病発症の新機構

研究課題名(英文) Quality control system for the newly synthesized tail-anchored proteins.

研究代表者

川原 裕之 (Kawahara, Hiroyuki)

首都大学東京・理工学研究科・教授

研究者番号：70291151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：研究実績の概要

テイルアンカータンパク質は、シグナル配列を持たない一群の1回膜貫通型タンパク質である。我々の研究から、テイルアンカータンパク質の生合成プロセスが破綻すると、BAG6複合体がこれを細胞質で捕獲し、ユビキチン依存的タンパク質分解系に輸送することを見出した。さらに、細胞内膜タンパク質生合成の恒常性を維持する新システムの提案を行うことが出来た(Suzuki and Kawahara, EMBO Rep. 2016; Yamamoto et al., Sci. Rep., 2017)。一方、我々がBUILDドメインと初めて定義した領域が、基質の疎水性領域を認識することを見出した。

研究成果の概要(英文)：A portion of newly synthesized tail-anchored proteins tend to fail their correct assembly into the lumen of endoplasmic reticulum, thus resulting in the production of the defective species. Although the efficient degradation of these aggregation-prone polypeptides is crucial, the molecular mechanism of their elimination pathway has not been adequately characterized. In this study, we focused on one such cryptic portion of the defective transmembrane domain protein, and show that a part of these is produced as a labile species that is immediately targeted to the degradation pathway. We found that proteasomes are indispensable for elimination of mislocalized tail-anchored species. These observations suggest that protein degradation machinery acts as a critical factor for degradation of mislocalized tail-anchored proteins.

研究分野：細胞生物学、生化学

キーワード：BAG6 ユビキチン プロテアソーム テイルアンカー蛋白質 タンパク質品質管理 タンパク質分解  
タンパク質凝集 シグナル配列

## 1. 研究開始当初の背景

テイルアンカータンパク質は、シグナル配列を持たない一群の1回膜貫通型タンパク質である。ヒトゲノムには、300種を超えるテイルアンカータンパク質がコードされているが、その生合成プロセス、ならびに品質管理のメカニズムには不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

本研究では、テイルアンカータンパク質の品質管理と分解に関わるBAG6複合体を中心に、新合成膜タンパク質の運命を決定する新しい機構を解明すべく実験を行った。

## 3. 研究の方法

膜タンパク質の小胞体への組み込み効率を定量できる実験系を構築し、BAG6複合体、ならびにユビキチン依存的分解系を機能低下させた際に、膜タンパク質の運命にどのような影響が出るのかを比較定量した。

## 4. 研究成果

我々の研究から、テイルアンカータンパク質の生合成プロセスが破綻すると、BAG6複合体がこれを細胞質で捕獲し、ユビキチン依存的タンパク質分解系に輸送することを見出した (Suzuki and Kawahara, *EMBO Rep.*, 2016)。さらに、本研究でBAG6複合体の標的となる新しい膜タンパク質を同定し、細胞内膜タンパク質生合成の恒常性を維持する新システムの提案を行うことが出来た (Yamamoto et al., *Sci. Rep.*, 2017)。一方、BAG6が基質を識別する分子機構についても解析を進め、我々がBUILDドメインと初めて定義した領域が、基質の疎水性領域を認識することを見出した (Tanaka et al., *FEBS J.*, 2016)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Noguchi, A., Adachi, S., Yokota, N., Hatta, T., Natsume, T., and Kawahara, H. (2018) ZFP36L2 is a cell cycle-regulated CCCH-protein necessary for DNA lesion-induced S-phase arrest. *Biol. Open* 7, doi: 10.1242/bio.031575
2. Xuan, X., Matsumoto, S., Endo, S., Fukushima, A., Kawahara, H., Saeki, Y., and Komada, M. (2018) Deubiquitinases USP5 and USP13 are recruited to and regulate heat-induced stress granules by deubiquitinating activities. *J. Cell Sci.* 131, 1-11. doi: 10.1242/jcs.210856.
3. Kondo, M., Noguchi, A., Matsuura, Y., Shimada, M., Yokota, N., Kawahara, H. (2018) Novel phosphorelay-dependent control of ZFP36L1 protein during the cell cycle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 501; 387-393. doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.212
4. Yamamoto, K., Hayashishita, M., Minami, S., Suzuki, K., Hagiwara, T., Noguchi, A., and Kawahara, H. (2017) Elimination of a signal-sequence uncleaved form of defective HLA protein through BAG6. *Sci. Rep.* 7, DOI:10.1038/s41598-017-14975-9
5. Suzuki, R. and Kawahara, H. (2016) UBQLN4 recognizes mislocalized transmembrane domain proteins and targets these to proteasomal degradation. *EMBO Rep.* 17, 842-857. doi: 10.15252/embr.201541402.
6. Takasugi, T., Saito, T., Asada, A., Kawahara, H. and Hisanaga, S.-I. (2016) Two degradation pathways of the p35 Cdk5 activation subunit, dependent and independent of ubiquitination.

*J. Biol. Chem.* 291, 4649-4657.

doi: 10.1074/jbc.M115.692871

7. Tanaka, H., Takahashi, T., Xie, Y., Minami, R., Yanagi, Y., Hayashishita, M., Suzuki, R., Yokota, N., Shimada, M., Mizushima, T., Kuwabara, N., Kato, R., and Kawahara, H. (2016) A conserved island of BAG6/Scythe is related to ubiquitin domains and participates in short hydrophobicity recognition. *FEBS J.* 283, 662-677. doi: 10.1111/febs.13618.
8. Yamaki, Y., Kagawa, H., Hatta, T., Natsume, T., and Kawahara, H. (2016) The C-terminal cytoplasmic tail of hedgehog receptor Patched1 is a platform for E3 ubiquitin ligase complexes. *Mol. Cell. Biochem.* 414: 1-12. doi:10.1007/s11010-015-2643-4

[学会発表](計 20 件)

1. 南 雪也、川原 裕之 (2018)「CHO 細胞を用いたインスリン依存的な GLUT4 膜移行検出系の構築」日本薬学会第 131 年会 2018 年 3 月 25 日(日)~27 日(水)もてなしドーム(石川県金沢市)
2. 川原 裕之 (2018)「ユビキチン化を介した小胞体タンパク質の非ERAD品質管理」ユビキチン研究会 2018年1月18日(木)~20日(土) 東京大学・大学院薬学研究科
3. 横田直人、川原裕之 (2017)「酸化ストレス存在下の BAG6 複合体の役割」2017 年度生命科学系学会合同年次大会 平成 29 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド, 神戸市
4. 野口あや、横田直人、足達俊吾、夏目徹、川原 裕之 (2017)「RNA-binding protein ZFP36L2 is a novel factor required for DNA-damage response」第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
5. 高橋俊樹、川原 裕之 (2017)「BAG6 依存的な Rab-GTPase 分解機構の解明 BAG6 regulates degradation of Rab-GTPase」第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
6. 林下瑞希、川原 裕之 (2017)「ミトコンドリアタンパク質を標的とする BAG6 新規機能の探索」第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
7. 大野靖枝、横田直人、川原 裕之 (2017)「ミスローカライズした GPI アンカー型タンパク質の代謝における BAG6 の機能解析」12 月 7 日第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
8. 岩佐康之、野口あや、横田直人、川原 裕之 (2017)「mRNA 3'UTR を介した PD-L1 発現調節機構の解明」第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
9. 鈴木勘司、鈴木理滋、川原裕之 (2017)「UBQLN4 の基質認識機構の解明」第 40 回日本分子生物学会 第 90 回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017 年 12 月 6 日(水)~9 日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場

- 他)
10. Xuan Xie、松本 俊介、遠藤 彬則、福嶋 俊明、川原裕之、駒田雅之 (2017)「脱ユビキチン化酵素 USP5 と USP13 による熱誘導性ストレス顆粒の脱凝集制御」第40回日本分子生物学会 第90回日本生化学会 生命科学系合同年会 2017年12月6日(水)~9日(土) 神戸ポートアイランド(神戸国際会議場他)
  11. Kawahara, H. (2017) A pathway for the cytoplasmic removal of mislocalized polypeptides. Molecular and Cellular Meeting, 2017年11月16日 TMU International House
  12. 川原 裕之 (2016)「ユビキチン識別タンパク質による新合成膜タンパク質の運命決定」「ユビキチンネオバイオロジー」会議 平成28年11月17日, ガトーキングダムサッポロ、北海道札幌市
  13. 川原 裕之 (2016)「新合成膜タンパク質の品質管理を担う新しい分子機構」平成28年12月26日, 筑波大学大学院生命環境科学研究科、茨城県つくば市
  14. 山本昂季、川原 裕之 (2016)「ミスロークライズした HLA の代謝における BAG6 の機能」第 89 回日本生化学会大会 平成 28 年 9 月 27 日、仙台国際センター, 仙台市
  15. 鈴木理滋、川原 裕之 (2016)「UBQLN4 による膜タンパク質品質管理機構の解明」第89回日本生化学会大会 平成28年9月27日、仙台国際センター, 仙台市
  16. 南雪也、川原 裕之 (2016)「Patched1 第7細胞質ドメイン結合タンパク質を介した新規 Sonic hedgehog シグナル制御機構」第 89 回日本生化学会大会 平成28年9月26日、仙台国際センター, 仙台市
  17. 戸島麻子、川原 裕之 (2016)「BAG6-Ub14a 複合体による不良膜タンパク質の品質管理機構」第89回日本生化学会大会 平成28年9月26日、仙台国際センター, 仙台市
  18. 高橋俊樹、川原 裕之 (2016)「BAG6 による不良タンパク質認識機構の解明」第89回日本生化学会大会 平成28年9月26日、仙台国際センター, 仙台市
  19. 林下瑞希、川原 裕之 (2016)「ミトコンドリアを標的とした BAG6 新規機能の探索」第39回日本分子生物学会大会 平成28年11月30日、パシフィコ横浜, 横浜市
  20. 坂山亮太、川原 裕之 (2016)「BAG6 は膜タンパク質 Tim-3 を量的に制御する」第39回日本分子生物学会大会 平成28年11月30日、パシフィコ横浜, 横浜市
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)
- 〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.biol.se.tmu.ac.jp/labo.asp?ID=celche>
6. 研究組織  
(1)研究代表者  
川原 裕之 ( KAWAHARA Hiroyuki )  
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：70291151