

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 7 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20570123

研究課題名(和文) レギュレータープロテオミクスによる新規の筋分化因子およびユビキチン装置の探索

研究課題名(英文) Search for novel myogenic factors and ubiquitination machineries by regulator proteomics

研究代表者

田村 隆明 (TAKA AKI TAMURA)

千葉大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：30112692

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：筋分化、ユビキチン化、TIP120、SCF

## 1. 研究計画の概要

近年、タンパク質分解による制御が筋分化に深くかかわることが知られるようになった。筋分化因子の代表的なものに MyoD やマイオジェニンがある。TIP120B は筋特異的に発現することから、筋分化と関連があると考えられた。マイオジェニンはユビキチン化された後でプロテアソームによって分解されるといった制御を受けるが、その抑制には TIP120B が関与する。TIP120B は SCF 複合体に結合することによって SCF 複合体を不安定かし、結果、ユビキチン化が阻害される。以上のような事が明らかになったが、TIP120B で分解が抑えられるタンパク質は、マイオジェニンだけではない可能性がある。本研究では、TIP120B によって誘導的に発現上層する筋分化関連タンパク質の包括的に解析を通して筋分化のメカニズムを明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

①細胞への TIP120B を強制発現、あるいは siRNA によって TIP120B を抑制するという実験系を作り、得られた細胞の抽出液を二次元電気泳動で分析し、量の変動する複数のタンパク質スポットの分析を進めた。

②マイオジェニンのユビキチン化酵素 SCF-1 複合体の中で使われる Fボックスタンパク質の解析を進め、MAFbx を同定した。

③筋特異的因子 TIP120B 自身の筋分化における遺伝子発現の解析を行った。同時に MAFbx の発現変化を、筋萎縮と筋分化の条件で行った。これらの結果を踏まえ、それぞれ遺伝子発現制御領域を取得し、プロモーター解析を行った。

## 3. 現在までの達成度

①上記①に関し、複数のスポットが見出されたが、筋分化に関わるものとして同定されたものは TIP120B 自身のみであった。この結果、TIP120B は、それ自身が筋分化を促し、筋分化が TIP120B の発現を促すというポジティブループの存在が示唆された。ただ、当初想定した TIP120B による新規筋分化因子やユビキチン因子の発現誘導は、このような系では起こりにくいか、見つけにくいと考えられた。以上の結果を踏まえ、筋分化が筋分化因子の発現と分解、さらにはユビキチン化因子のダイナミクスとのバランスの上で制御されるという、これまでにないような機構が想定された。

②TIP120B の発現が筋分化によって上昇するという現象が見出された。さらにその発現は MyoD によっても上昇した。これにより MyoD が TIP120B の制御因子となっている可能性が示唆された。並行して MAFbx の遺伝子発現も検討し、MAFbx がデキサメタゾン処理と MyoD 発現の両方によって上昇するという結果が得られた。

## 4. 今後の研究の推進方策

今後は筋分化と筋萎縮の制御に関する 2 つの因子、すなわち TIP120B と MAFbx の遺伝子発現機構を詳細に解析する。これまでの解析により、TIP120B の遺伝子上流には多数の MyoD 結合部位が存在し、しかも MyoD の過剰発現によって TIP120B のプロモーターの活性が上昇することがわかっている。そのため、MyoD がプロモーターとどのように相互作用して転写を上げる分子機構を明らかにする。MAFbx に関しても MyoD 結合部位が見つかったので、これも上と同様の解析を進める。以上の解析を通して、筋分化因子に関わる筋

分化と筋萎縮のバランスの調節機構に迫る。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 3件)

- ① Shiraishi, Naomi Tamamura, Misako Jogo, Yuji Tanaka, and Taka-aki Tamura (2009). Rapid proteasomal degradation of TFIIIB in accordance with F9 cell differentiation. Gene, 436, 115-120.
- ② Misako Jogo, Seiji Shiraishi and Taka-aki Tamura (2009). Identification of MAFbx as a Myogenin-Engaged F-box Protein in SCF Ubiquitin Ligase. FEBS Lett., 583, 2715-2719.
- ③ Yusuke Suenaga, Toshifumi Ozaki, Yuji Tanaka, Youquan Bu, Takehiko Kamijo, Takeshi Tokuhisa, Akira Nakagawara and Taka-aki Tamura (2009). TLP Is Engaged in Etoposide-induced Apoptosis through Transcriptional Activation of Human *TAp63* Gene. J. Biol. Chem., 284, 35433-35440.

[学会発表] (計 5件)

- ①城後美沙子、白石征士、竹脇万紗、田村隆明「マイオジェニンのユビキチン化に関する F-box タンパク質の同定」第 32 回分子生物学会年会、2009 年 12 月、横浜
- ②池田香織、小野恵美、田村隆明「TLP によって転写が制御される細胞周期因子」第 32 回分子生物学会年会、2009 年 12 月、横浜
- ③鈴木あい、白石征士、田村隆明「筋分化過程において TIP120B と MyoD の間に見られる正の制御機構」第 32 回分子生物学会年会、2009 年 12 月、横浜
- ④伊藤亮、池田香織、小野恵美、田村隆明「ヒト p21 プロモーターをモデルとした TBP-like protein (TLP) の機能解析」第 33 回分

子生物学会年会、2010 年 12 月、神戸

- ⑤熊谷友、末永雄介、田村隆明「C/EBP $\alpha$  による TLP を介した TAp63 遺伝子転写制御機構」第 33 回分子生物学会年会、2010 年 12 月、神戸

[図書] (計 5件)

- ①田村隆明、裳華房、コア講義生物学、2008 年、208 ページ
- ②田村隆明、山本雅 (編集)、羊土社、分子生物学イラストレイテッド・改訂第 3 版、2009 年、348 ページ
- ③田村隆明、裳華房、コア講義生化学、2009 年、208 ページ
- ④田村隆明、東京化学同人、基礎細胞生物学、2010 年、328 ページ
- ⑤田村隆明、裳華房、医療・看護のための生物学、2010 年、180 ページ