

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23370063

研究課題名(和文)新合成不良蛋白質のサーベイランスと選択的分解の意義

研究課題名(英文)Functional significance of BAG6 in quality control of nascent polypeptides

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,600,000円、(間接経費) 4,680,000円

研究成果の概要(和文)：BAG6は、ヒトMHC遺伝子座にコードされるユビキチン様タンパク質である。その機能は長らく不明であったが、我々は最近、新合成タンパク質の疎水性領域を認識し、これをユビキチン依存的分解系に導く新因子であることを明らかにした。本研究において、BAG6会合タンパク質群の全貌を明らかにしたが、その一部は膜タンパク質のアッセンブリに必要な因子であった。BAG6が不良な新合成タンパク質を認識する仕組みを明らかにした、さらに、BAG6が標的タンパク質を認識するために協同する新しいパートナータンパク質を同定した。以上の成果は、当初、想定したものを大きく超えており、十分な成果を挙げられたものと考えている。

研究成果の概要(英文)：BAG6 (also known as BAT3/Scythe) is a ubiquitin-like protein that is thought to participate in a variety of seemingly unrelated physiological and pathological processes, such as apoptosis, antigen presentation and the T cell response. Recent studies have shown that BAG6 is essential for the quality control of aggregation-prone polypeptide biogenesis. It forms part of a complex that determines the fate of newly synthesized client proteins for membrane insertion, ubiquitin-mediated degradation and/or aggregate formation. A biologically relevant transmembrane protein family has recently been shown to be a major client of BAG6, suggesting that many of the known diverse BAG6 functions can be interpreted by BAG6-mediated control of membrane protein biogenesis. In this project, we investigated the physiological roles of BAG6 with a particular focus on quality control for nascent chain polypeptides.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：機能生物化学

キーワード：BAG6 ユビキチン プロテアソーム タンパク質の品質管理 細胞内タンパク質分解 分子シャペロン  
新合成ポリペプチド

### 1. 研究開始当初の背景

最近、蛋白質新合成の場に厳密な品質管理機構が存在することが明らかになってきた。新合成された蛋白質の構造が不良である場合、これらは生成した直後に異常性が認識され、分解・凝集系にターゲットされる。新合成不良蛋白質の認識・代謝系は神経変性疾患の防御や免疫・抗原提示に極めて重要であるが、その分子メカニズムはこれまで明らかではなかった。我々は最近、BAG6 が新合成不良蛋白質を特異的に認識して、これらをプロテアソーム系にリクルートすることを初めて明らかにした。BAG6 を抑圧した細胞では、新合成不良蛋白質の代謝に失敗し高率で細胞死が誘導される。一方、MHC クラス I 提示される抗原ペプチドは、新合成不良蛋白質の分解産物に由来する。我々は最近、MHC クラス I への抗原ペプチド供給に BAG6 が必須の役割を果たすことを見だし、免疫系における BAG6 (別名 BAT3) の必須機能を初めて解明した。これらの成果は、2010 年 8 月に、*J. Cell Biol.* 誌に公表され、大きな反響を呼んでいる。

### 2. 研究の目的

本研究では、これまでの我々の成果を基盤に、BAG6 が新合成不良蛋白質を特異的に認識し、細胞内蛋白質の恒常性を維持・監視する機構を生化学・構造生物学などの手法を駆使して解明する。これらの解析を通して得られた新知見を、BAG6 システムを介した細胞内不良蛋白質の新規サーベイランス機構として統合し、ヒトを含む高等生物の細胞機能保持のための新しい調節システムとしてその生理的意義の全貌を理解・提案することを本研究の目的としている。

### 3. 研究の方法

これまでの我々の研究から、BAG6 依存性の不良蛋白質認識・代謝システムが細胞の恒常性維持に必須な役割を演じていることが

明確になりつつある。これまでの我々の研究成果を基盤に、BAG6 が新合成不良蛋白質を特異的に峻別するサーベイランス機構とその意義について、徹底的なアプローチを進める。具体的には、(1) BAG6 を介した不良蛋白質サーベイランス系と細胞死制御、(2) 新合成不良蛋白質のコピキチン化に関わる新規 BAG6 パートナーの同定、そして(3) 新合成不良蛋白質を峻別する BAG6 の構造的基盤解明、を重点項目課題として、本研究を推進した。

### 4. 研究成果

#### 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 4 件)

Kawahara, H., Minami, R. and Yokota, N. (2013) BAG6/BAT3: Emerging roles in quality control for nascent polypeptides. *J. Biochem.* 153, 147-160. doi: 10.1093/jb/mvs149

Kagawa, H., Shino, Y., Kobayashi, D., Demizu, S., Shimada, M., Ariga, H. and Kawahara, H. (2011) A novel signaling pathway mediated by the nuclear targeting of C-terminal fragments of mammalian Patched 1. *PLoS ONE* 6: e18638. doi:10.1371/journal.pone.0018638

Sato, K., Minegishi, S., Takano, J., Plattner, F., Saito, T., Asada, A., Kawahara, H., Iwata, N., Saido, T.C., and Hisanaga, S. (2011) Calpastatin, an endogenous calpain-inhibitor protein, regulates the cleavage of the Cdk5 activator p35 to p25. *J. Neurochem.* 117:504-515.

川原裕之, 南亮介 (2011) 「BAG6 を介したタンパク質品質管理の新機構」*実験医学*、第 29 巻、7 月増刊号、羊土社

[学会発表](計 50 件)

1. Kozawa, H., Kobayashi, T., Endo, A., Tanno, H., Nakamura, N., Bolotbyek, A., Yamamoto, A., Kawahara, H., and Komada, M. (2012) A deubiquitinating enzyme family protein USP18 is implicated in elimination of misfolded proteins by the proteasome. Joint Meeting of The 45th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists & The 64th Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology May 28 – May 31, Kobe International Conference Center
2. 川原裕之、南亮介、横田直人「易凝集性タンパク質の品質管理におけるBAG6複合体の役割 BAG6 is essential for selective elimination of aggregatin-prone proteins.」第12回 日本蛋白質科学会 年会ワークショップ「in vivo 蛋白質科学：構造形成と分解」平成24年6月21日 名古屋国際会議場
3. 鈴木理滋、横田直人、川原裕之「新合成タンパク質の品質管理におけるBAG6結合タンパク質UBQLN4の役割」第12回 日本蛋白質科学会、平成24年6月21日 名古屋国際会議場
4. 志野優佳、賀川裕貴、川原裕之「ヒトヘッジホッグレセプターPatched1はC末端細胞質ドメインでプロセッシングを受ける」第12回 日本蛋白質科学会、平成24年6月21日 名古屋国際会議場
5. 川原裕之、横田直人「ユビキチン識別タンパク質複合体による新合成ポリペプチド鎖の品質管理」平成24年度発足 新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー：拡大するタンパク質制御システム」Kick-offシンポジウム平成24年9月26日 京大医学部
6. 林下瑞希、横田直人、川原裕之 (2012) 「BAG6 新奇スプライシングバリエーションの同定と解析」第35回日本分子生物学会年会、12月11日～14日、福岡国際会議場
7. 野口あや、川原裕之、横田直人(2012)「細胞周期制御におけるヒト Tis11b,Tis11dの機能解析」第35回日本分子生物学会年会、12月11日～14日、福岡国際会議場
8. 江川博、賀川裕貴、川原裕之 (2012) 「Protein Kinase C による Patched1 細胞内領域のリン酸化とその意義」第35回日本分子生物学会年会、12月11日～14日、福岡国際会議場
9. 川原裕之 (2012)「BAG6-プロテアソーム複合体を介した易凝集性タンパク質の品質管理」第85回日本生化学会大会シンポジウム「プロテアソーム：タンパク質分解の分子基盤と疾患・バイオロジー」オーガナイザー、村田茂穂、川原裕之 第85回日本生化学会大会 2012年12月14日、福岡国際会議場
10. 岩崎茜、川原裕之 (2012)「新規 Patched1 結合タンパク質を介した Shh 情報伝達経路の調節機構」第85回日本生化学会大会 2012年12月14日-16日、福岡国際会議場
11. 田中啓史、川原裕之 (2012) 「BAG6/Scythe/BAT3 による新合成不良タンパク質の識別機構」第85回日本生化学会大会 2012年12月14日-16日、福岡国際会議場
12. 池尻昂史、横田直人、川原裕之 (2012) 「免疫応答における BAG6 タンパク質の意義」第85回日本生化学会大会 2012年12月14日-16日、福岡国際会議場
13. 中村文香、川原裕之 (2012)「BAG6 による核内タンパク質代謝を定量するシステムの開発」

- 第 8 5 回日本生化学会大会 2012 年 12 月 14 日-16 日、福岡国際会議場
14. 高杉俊之, 嶺岸 正治, 小林 弘侑, 齋藤 太郎, 浅田 明子, 川原 裕之, 久永 眞市(2012)「Cdk5活性化サブユニットp35はユビキチン非依存的にプロテアソーム分解される」第 8 5 回日本生化学会大会 2012年12月14日-16日、岡国際会議場
  15. Bolotbyek Avliush, 小澤 勇人, 遠藤 彬則, 丹野 秀崇, 中村 信大, 山本 章嗣, 川原 裕之, 駒田 雅之「脱ユビキチン化酵素USP18はユビキチン化された変性タンパク質によるアグリソーム形成に 関与する」第 8 5 回日本生化学会大会 2012年12月14日-16日、福岡国際会議場
  16. 川原裕之, 南亮介, 横田直人 (2013) 新 合成ポリペプチドの品質管理を担うBAG6 複合体- その構造解明に向けて -」物構 研談話会 2013年1月7日(月) 加速器研 究機構(筑波) 構造生物学研究センター
  17. 横田直人, 川原裕之「哺乳類Getタンパク 質群の機能から探る, BAG6の細胞恒常性 維持機構」科研費新学術領域研究「ユビ キチンネオバイオロジー」第1回領域班会 議 平成25年1月29日(火)-30日(水) 淡路夢舞台
  18. 鈴木理滋, 横田直人, 川原裕之 「UBQLN4 による新合成タンパク質の品質管理」科 研費新学術領域研究「ユビキチンネオバ イオロジー」第1回領域班会議 平成 25 年 1 月 29 日 ( 火 ) - 30 日 ( 水 ) 淡路夢舞 台
  19. 高橋俊樹, 横田直人, 川原裕之「1 2 回 膜貫通タンパク質 Patched1 のアッセン プリと品質管理メカニズム」科研費新学 術領域研究「ユビキチンネオバイオロジ ー」第1回領域班会議 平成 25 年 1 月 29 日 ( 火 ) - 30 日 ( 水 ) 淡路夢舞台
  20. 野口あや, 川原裕之, 横田直人 「Tis11B と Tis11D の細胞周期依存的なリン酸化 と分解制御」科研費新学術領域研究「ユ ビキチンネオバイオロジー」第1回領域 班会議 平成 25 年 1 月 29 日 ( 火 ) - 30 日 ( 水 ) 淡路夢舞台
  21. 林下瑞希, 横田直人, 川原裕之 「BAG6 と相互作用する新奇タンパク質の探索- 質量分析からのアプローチ」科研費新学 術領域研究「ユビキチンネオバイオロジ ー」第1回領域班会議 平成 25 年 1 月 29 日 ( 火 ) - 30 日 ( 水 ) 淡路夢舞台
  22. Kawahara, H. (2013) BAG6 is essential for selective elimination of aggregation-prone defective proteins. "The Ubiquitin-Proteasome System: From Basic Mechanisms to Pathophysiological Roles", 35th Naito Conference 第 3 5 回内藤カンファレン ス 平成 2 5 年 7 月 2 2 - 2 5 日 ガト ーキングダム札幌
  23. 川原裕之 (2013) 新合成ポリペプチドの 品質管理を担うBAG6複合体- その構造解 明に向けて -」物構研談話会 2013年1 月7日(月) 加速器研究機構(筑波) 構造 生物学研究センター
  24. 川原 裕之 (2013) 日本生化学会シンポ ジウム講演 「BAG6複合体による新しい 新合成ポリペプチドの品質管理機構 BAG6 complex regulates the biogenesis of aggregation-prone membrane proteins.」第 8 6 回 日本生化学会 年会 平成 2 5 年 9 月 1 1 - 1 3 日 パシフィコ横浜
  25. 野口 あや, 川原 裕之, 横田 直人 (2013) 「Tis11B/Dのリン酸化依存的な局 在変化と分解制御機構 The localization and degradation of Tis11B/D are dependent on their phosphorylation state.」第 8 6 回 日 本生化学会 年会 平成 2 5 年 9 月 1 1 - 1 3 日 パシフィコ横浜

26. 鈴木 理滋, 福田 有里, 横田 直人, 川原 裕之(2013)「UBQLN4によるタンパク質品質管理機構The function of UBQLN4 in protein quality control」第86回日本生化学会 年会 平成25年9月11-13日 パシフィコ横浜
27. 鈴木 理滋, 福田 有里, 横田 直人, 川原 裕之(2013)「UBQLN4によるタンパク質品質管理機構The function of UBQLN4 in protein quality control」第86回日本生化学会 年会 平成25年9月11-13日 パシフィコ横浜
28. 林下 瑞希, 横田 直人, 川原 裕之(2013)「新規BAG6複合体構成因子の同定と解析 Analysis of novel BAG6 interacting proteins」第86回日本生化学会 年会 平成25年9月11-13日 パシフィコ横浜
29. 高橋 俊樹, 川原 裕之(2013)「SAP18を介した Patched 1 新規機能の解析 A novel function of Patched1 mediated by SAP18」第86回日本生化学会 年会 平成25年9月11-13日 パシフィコ横浜
30. 八巻 優佳, 八田 知久, 賀川 裕貴, 佐伯 泰, 夏目 徹, 田中 啓二, 川原 裕之(2013)「ヘッシホック受容体 Patched 1 と相互作用するユビキチン化酵素群の同定とその機能解析」第36回日本分子生物学会 年会 平成25年12月3-6日 神戸ポートアイランド
31. 早川 万紀子, 八田 知久, 岩崎 茜, 佐伯 泰, 夏目 徹, 田中 啓二, 川原 裕之(2013)「Shh シグナルに依存的な選択的スライシンク制御機構の解明」第36回日本分子生物学会 年会 平成25年12月3-6日 神戸ポートアイランド
32. 賀川 裕貴, 藤田 康平, 重見 善平, 渡部 匡史, 川原 裕之, 藤室 雅弘 (2013)「カホシ肉腫関連ヘルペスウイルス(KSHV)はSonic hedgehog(Shh)シグナル伝達経路を介して、感染細胞の生活環を調節している」第36回日本分子生物学会 年会 平成25年12月3-6日 神戸ポートアイランド
33. 林下 瑞希, 川原裕之(2013)「ERADにおける新規BAG6結合タンパク質の機能解析」バイオカンファレンス2013、首都大 平成25年11月8日
34. 高橋俊樹, 川原裕之(2013)「SAP18による新規ヘッジホッグシグナル制御機構の探索」バイオカンファレンス2013、首都大 平成25年11月8日
35. 川原裕之(2013)「UBAドメイン蛋白質を介したシグナル配列不良型膜蛋白質の代謝調節」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
36. 野口 あや, 川原裕之(2013)新学術若手シンポジウム「RNA結合タンパク質ZFP36L2はリン酸化を介して代謝と活性が制御される」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
37. 鈴木 理滋, 川原裕之(2013)「UBQLN4複合体が司る膜タンパク質の新しい品質管理機構」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
38. 林下 瑞希, 川原裕之(2013)「タンパク質品質管理における新規BAG6結合タンパク質の同定と機能解析」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル

39. 牛尾ちづる、川原裕之(2013)「BAG6-Ubl4a 複合体の動態に及ぼすポリグルタミン凝集体形成の影響解明」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
40. 八巻優佳、川原裕之(2013)「E3リガーゼ ZYG11Bによる細胞分化制御に関わる研究」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
41. 関 裕之、川原裕之(2013)「TALEN法を用いた12回膜貫通タンパク質Patched1欠損細胞株の確立」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
42. 高橋 俊樹、川原裕之(2013)「ユビキチンフォールドタンパク質SAP18によるヘッジホッグシグナルの制御機構」科研費新学術領域研究「ユビキチンネオバイオロジー」第2回領域班会議 平成26年12月11日-13日, 熱海ニューフジヤホテル
- 他 2 0 1 1 年度学会発表の 8 件がある。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

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

(2)研究分担者  
横田 直人 (YOKOTA Naoto)  
首都大学東京・大学院理工学研究科・助教  
研究者番号：40610564