

領域略称名：ユビキチン制御
領域番号：3402

平成26年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「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」

(領域設定期間)

平成24年度～平成28年度

平成26年6月

領域代表者 (京都大学・大学院医学研究科・教授・岩井 一宏)

目 次

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	2
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	4
3. 研究の進展状況	6
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	9
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	10
6. 総括班評価者による評価	11
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	13
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公开发表等）	16
9. 今後の研究領域の推進方策	21

研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

【研究目的】

細胞は内外の環境変化に即応して自らのタンパク質の機能を制御することにより、生命活動を維持している。ユビキチンは76アミノ酸からなる真核生物に高度に保存された翻訳後修飾タンパク質である。ユビキチン修飾系はタンパク質分解系の一部として発見された経緯から「ユビキチン」＝「分解」として研究が発展してきた。しかし、現在ではユビキチン修飾系は、分解以外にも複合体形成、局在変化、活性化などの多様な様式でタンパク質機能を調節することにより多彩な生命現象の制御において中核的な役割を果たすことが明確となりつつあり、ユビキチン研究は新たな「ネオバイオロジー」の時代に突入している。

ユビキチン修飾系にはユビキチンモノマーがタンパク質に1個あるいは複数箇所結合する場合もある。しかし、ユビキチン修飾が他の翻訳後修飾と大きく異なる特徴はユビキチンが数珠状に連なったポリマーであるポリユビキチン鎖としてタンパク質の機能を制御することがほとんどである点にある(図1)。ユビキチン分子内に7個存在するリジン(K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63)、およびN末端のメチオニン(M1)を介した8種のユビキチン間結合が報告されている(図1)。ユビキチン間結合が一樣

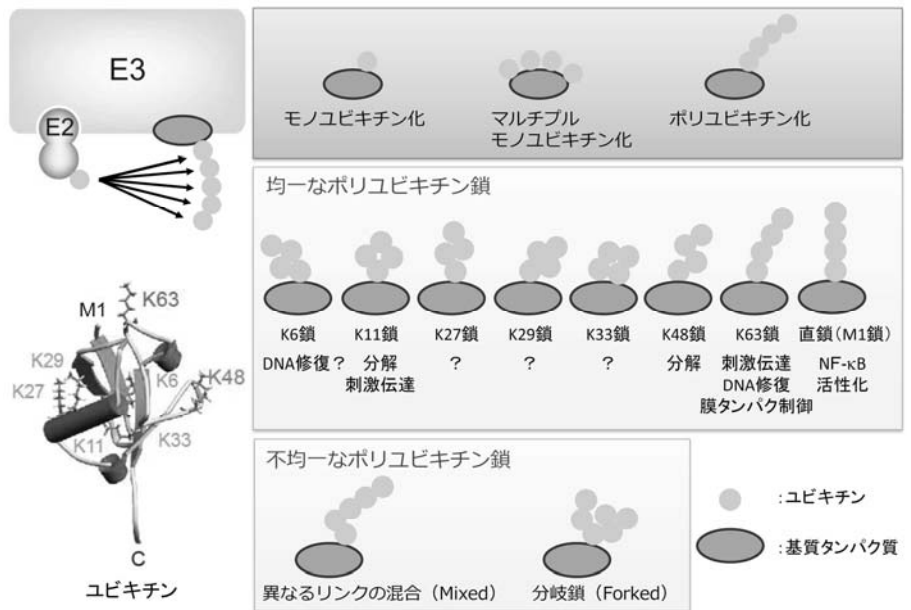


図1 多彩なユビキチン修飾とその機能

種類によってタンパク質の制御様式が異なる(図1)。さらに、ユビキチン分子自身の修飾の存在も示されつつあり、ユビキチン修飾系は「ユビキチンコード」と称されるほどに多様な様式でタンパク質の機能を制御している。今後、ユビキチンによる新たな生命現象制御機構が次々と明らかになると考えられ、生命科学におけるユビキチン修飾系の重要性は益々拡大すると想定される。

近年の質量分析技術の進歩は次々にユビキチン修飾系のタンパク質と様々な生体制御分子との相互作用を明らかにし、ユビキチン修飾系の研究手法はライフサイエンスの広汎な領域の研究者にとっても不可欠となった。一方でエポックの大きなユビキチン研究の発信には安定同位体を用いた質量分析によるポリユビキチン鎖の定量的解析などの高度な解析が要求されるようになった。これらの解析手法は高い技量、設備を必要とするので、個々の研究室で全てに対応することは難しい。それゆえ、我が国のライフサイエンスの発展には生命科学の多くの領域の研究者が高度なユビキチン解析技術をもつ研究者と容易に共同研究できる体制を構築する必要がある。

【研究構想】

ユビキチン修飾系はE1(活性化酵素)/E2(結合酵素)/E3(ユビキチンリガーゼ)の3種の酵素群から構成され、多数存在するE3(ヒトでは約600種類)が状況に応じて選択的に識別する標的タンパク質に次々とユビキチ

ンを結合させてポリユビキチン鎖を生成する(図2)。この過程で生成される多様なユビキチン修飾によるユビキチンコードが、特異的な識別ドメインを持つユビキチン識別タンパク質群に認識されることによりその情報が読み解かれ(デコード)、多彩な生理機能を発揮する。また、ポリユビキチン結合を切断する脱ユビキチン化酵素(DUB: 約100種類)によってもその機能が調節される(図2)。

ユビキチン修飾系の複雑性やその多彩な機能が明らかになるにつれ、ユビキチン研究に必要な**研究手法は多様化し**、さらに**高度な解析手法**が要求されつつある。したがって、もはや1つの研究室でその全てに対応するのは不可能である。そこで、本領域ではユビキチン研究、関連研究に従事してきた研究者を結集し、今後の我が国のユビキチン研究の発展に不可欠である**多様なポリユビキチン鎖の選択的生成、切断、識別機構**等の解明、定量的なポリユビキチン鎖検出法等の**最先端の研究手法の開発**と、**ユビキチンコードによる新たな生命機能制御メカニズム**の解析を進める。

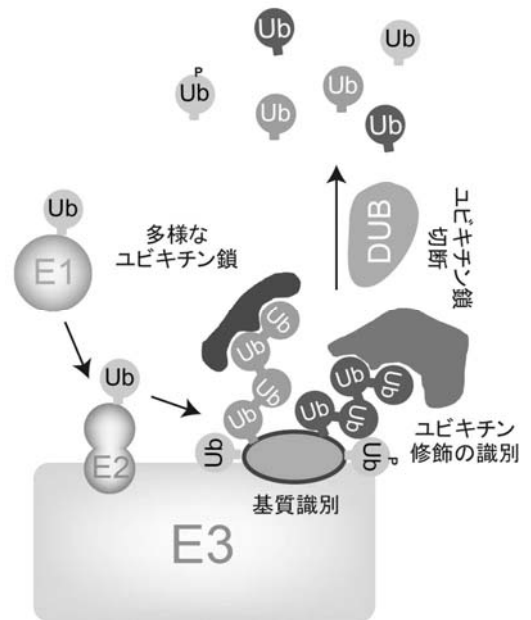


図2 ユビキチン修飾系の機能発現様式

加えて、前述の様にユビキチン修飾系は多彩な生命現象を制御しているので、今後もその役割は拡大すると考えられる。その全てを**計画研究のみで網羅することは困難**である。そのような状況下で、日進月歩のユビキチン研究で世界的な研究を発信し続けるためには、最新技術を導入した研究手法の積極的な開発が不可欠である。そこで、計画研究ではカバーできない**ユビキチン修飾系の新規解析技法**や、異分野、他方面の生命科学研究の中で、**ユビキチン修飾系の新たな関与**が示されるオリジナルな研究に従事している公募研究者とともに以下の研究を推進する。

1. ユビキチン修飾系を精力的に解析してきた研究者が中心となって、E3ユビキチンリガーゼによる基質識別、ポリユビキチン鎖識別タンパク質、選択的ポリユビキチン鎖定量法の開発、ユビキチンコードの生成、解読、調節機構の構造生物学の視点等から今後のユビキチン研究に必須な研究手法の確立を進める。
2. 加えて、ユビキチンの関与に着目して刺激伝達、膜タンパク質輸送、転写、DNA修復とガン等多様な生命現象の局面から研究に邁進してきた研究者が、本領域で確立する最先端の手法を用いた解析を行ってそれらの有用性の検討を進めるとともに、開発した新規解析技法を用いてユビキチン修飾系による生命現象制御機構の研究を深化させる。
3. さらに、ユビキチンコードによる生命機能制御研究で新たに見出された知見を新しいユビキチン研究ツールの開発にフィードバックするなど領域内で有機的な連携研究を展開し、本領域の終了時には、我が国の**ライフサイエンス研究に不可欠な世界レベルのユビキチン解析手法の確立**と、それを活用して**ユビキチンコードによる新たな生体制御機構を解明**することを目指す。

ユビキチン修飾系は多岐にわたる生命現象の制御系として機能しているので、本領域の発展は**ライフサイエンスの広汎な領域の理解、進展に大きな役割**を果たすことは、疑いの余地がないと思われる。また近年、ユビキチン修飾系の異常による疾病(ガン・神経病・免疫疾患等)が急増しており、とりわけ、抗ガン剤を中心に世界中で様々なユビキチン創薬が進展している。それゆえ、本領域の発展は創薬シーズを生み出すばかりか、開発する研究インフラは創薬研究にとっても有益なツールを提供すると考えられると共にその成果を背景に**病気の発症・増悪を阻止して健康社会を実現**することに貢献することをめざしている。

2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

【研究組織と各研究項目との関係】

本領域では構造、機能の両面からのアプローチにより、新時代のユビキチン研究:ユビキチンネオバイオロジーを展開する。ユビキチン修飾系はタイムリーにかつ選択的に標的タンパク質を識別して、ユビキチンで修飾する。そして、結合したユビキチン修飾を特異的な結合タンパク質によってデコードすることで、タンパク質の機能を調節して種々の生命現象を制御する。脱ユビキチン化酵素が修飾したポリユビキチン鎖を切断することで、多くの場合ユビキチン修飾によって惹起された現象を収束に向かわせる（図2）。研究項目 A01 では種々のユビキチン修飾によって制御される生命現象を、A02 では異なったユビキチン修飾の選択的生成、識別、切断メカニズムに関して研究を進める。ただし、解析技術の開発とバイオロジー研究は全く分離した研究領域ではなく、それぞれの項目の研究者が別の項目の研究にも従事する場合がある。

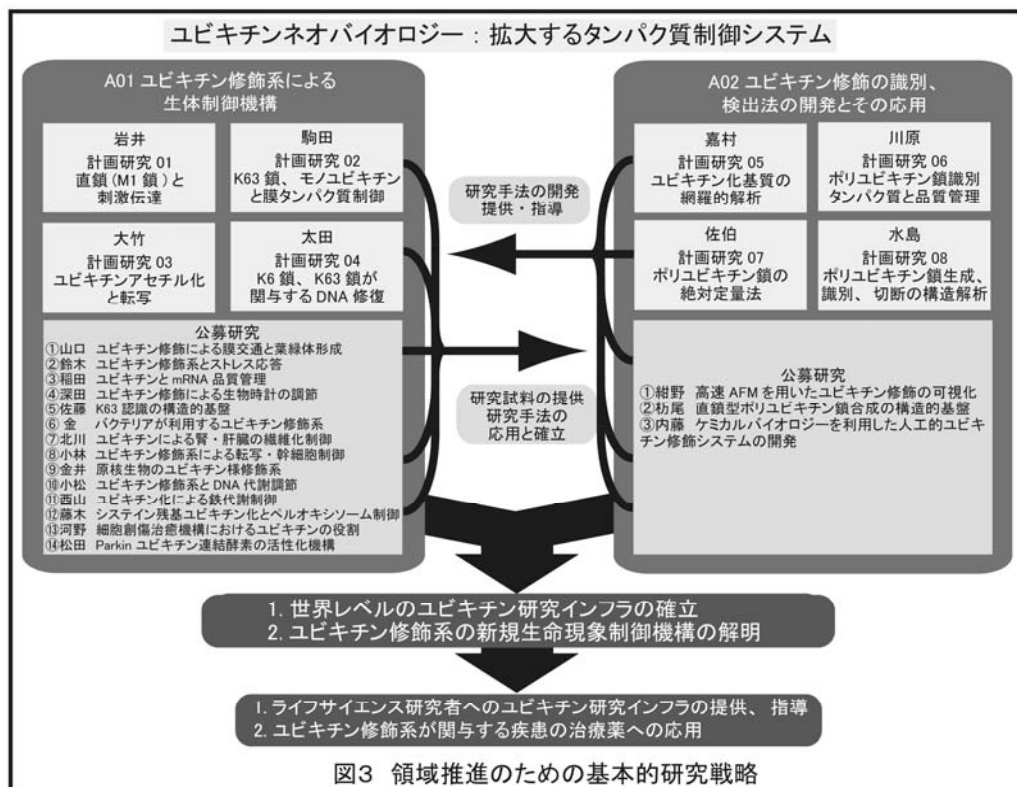


図3 領域推進のための基本的研究戦略

研究項目 A01「ユビキチン修飾系による生体制御機構」

計画研究では異なるユビキチン修飾、具体的には K6 鎖、K63 鎖、直鎖(M1 鎖)などのポリユビキチン鎖、モノユビキチンとユビキチンタンパク質自身の修飾に着目しつつ、DNA 相同組換え修復、転写、膜タンパク質動態制御、刺激伝達に関する研究を推進する。公募研究ではユビキチン修飾の種類は問わず、多様な生命現象におけるユビキチン修飾系の多彩な機能の解析を進める。さらに、研究項目 A02 の研究者と共同して本領域で見出した新知見に基づく新規解析ツール開発にも着手する。

研究項目 A02「ユビキチン修飾の識別、検出法の開発とその応用」

計画研究では質量分析、X 線構造解析などの手法を用いて、ポリユビキチン鎖の絶対的定量法や、ユビキチン修飾されるタンパク質の網羅的解析、多様なポリユビキチン鎖の選択的認識、切断の構造的基盤の解析に着手する。さらに A01 と共同し、領域代表が世界に先駆けて報告してきた直鎖状ポリユビキチン鎖特異的抗体の樹立などのユビキチンネオバイオロジーの解析に不可欠な研究インフラの整備を進める。公募研究では、日本が世界をリードする高速原子間力顕微鏡(AFM)や、計画研究では手薄であった NMR、ケミカルバイオロジーの手法に秀でた研究者を加え、新たなユビキチン研究手法の開発を進め、それらを用いてユビキチン修飾系による新たな生命機能制御システムの解明を推進する。

研究組織間の連携状況

ユビキチンネオバイオロジーの研究には相互作用する分子の同定、立体構造の解析は不可欠であり、それらの世界トップレベルの技術を確認している。以下に示すように、それらの技術を用いて計画研究のみならず

らず、公募研究も含めた研究組織間の連携研究が多数進行している。

質量分析技術に関する連携

すでに成果を誌上発表した連携

1. 佐伯(計画)-岩井(計画)：直鎖状ポリユビキチン鎖を生成するリガーゼ、脱ユビキチン化酵素の結合を同定 (Takiuchi et al. Genes Cells 2014)
2. 佐伯(計画)-松田(公募)：PINK1キナーゼの新しい基質の同定 (Koyano et al. Nature in press)

現在進行中の連携

1. 佐伯(計画)-川原(計画)：ユビキチン結合タンパク質の網羅的解析およびユビキチン識別分子結合タンパク質BAG6の相互作用因子の同定
2. 佐伯(計画)-大竹(計画)：アセチルユビキチンの絶対定量方法の確立と測定
3. 佐伯(計画)-駒田(計画)：遺伝子変異による脱ユビキチン化酵素(DUB)USP8の活性上昇機構の解析
4. 佐伯(計画)-稲田(公募)：mRNAの分子内切断、合成途中の新生鎖の分解に関与するリガーゼの基質の同定
5. 佐伯(計画)-内藤(公募)：アポロン・ユビキチンリガーゼの基質の同定
6. 佐伯(計画)-山口(公募)：シロイヌナズナのプロテアソームサブユニット*rpt2a*変異により蓄積するユビキチン化タンパク質の同定

X線構造解析に関する連携

すでに成果を誌上発表した連携

1. 加藤(計画)-岩井(計画)：LUBACによるNF- κ B活性化を惹起する際の基質であるNEMOの識別様式の構造解析 (Fujita, H et al. Mol. Cell. Biol. 2014)
2. 水島(計画)-金(公募)：赤痢菌のエフェクターOspIがユビキチン結合酵素UBC13を認識する分子機構 (Nishide A et al. J. Mol. Biol. 2013)

現在進行中の連携

1. 水島(計画)-岩井(計画)-佐藤(公募)：CYLD DUB と HOIP との共結晶化
2. 水島(計画)-川原(計画)：BAG6の不良タンパク質の露出された疎水性領域の認識ドメイン BUILD の構造予測解析
3. 水島(計画)-畠山(計画)：TRIM型ユビキチンリガーゼ TRIM23、TRIM29 の構造解析
4. 加藤(計画)-川原(計画)：BAG6とユビキチン識別タンパク質 UBL4 複合体構造解析
5. 加藤(計画)-駒田(計画)：脱ユビキチン化酵素 USP37 とユビキチン鎖の複合体の構造解析
6. 水島(計画)-鈴木(公募)：Keap1ユビキチンリガーゼと低分子化合物の共結晶構造解析
7. 水島(計画)-金(公募)：赤痢菌のエフェクターIpaHと宿主内基質タンパク質の複合体構造解析
8. 柄尾(公募)-岩井(計画)：LUBACの構造解析

NMRを用いた相互作用解析に関する連携

現在進行中の連携

1. 柄尾(公募)-駒田(計画)：Ankrd13Aのユビキチン認識領域UIMとユビキチンの相互作用の解析
2. 柄尾(公募)-岩井(計画)：LUBAC複合体の安定化を規定するサブユニット間相互作用解析

高速AFMに関する連携

現在進行中の連携

1. 紺野(公募)-岩井(計画)：LUBACによる直鎖状ユビキチン化形成の可視化
2. 紺野(公募)-金井(公募)：好熱菌由来のユビキチン様修飾系の可視化

その他の連携

現在進行中の連携

1. 太田(計画)-畠山(計画)：DNA二本鎖切断(DSB)修復における TRIM29 の役割の解析
2. 川原(計画)-駒田(計画)：脱ユビキチン化酵素 USP18 と BAG6 のアグリソーム形成における協調。
3. 岩井(計画)-畠山(計画)：TRIMファミリーE3における直鎖型ユビキチン鎖の役割
4. 佐伯(計画)-岩井(計画)-佐藤(公募)：ユビキチン鎖長決定法確立のためのM1鎖、K48鎖、K63鎖の調製

3. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する〕（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

【設定目標と進展状況】

ユビキチンが織りなす多様な生体制御メカニズムを理解するためには、ポリユビキチン鎖をはじめとした構造的に多様なユビキチンコードの選択的生成、解読、切断の分子機構とユビキチンコードによる新たな生命現象制御機構の理解が不可欠である（図 2）。そこでまず、分解研究を通して蓄積してきたユビキチン研究のノウハウを生かして研究を進めるとともに、将来のユビキチン研究に必須な世界トップレベルの新規ユビキチン研究試料、手法の確立を進める。さらに、それらの研究試料、手法を活用して、多様なユビキチン修飾による様々な生命現象の制御機構を解明するとともに、新たに見出した知見を新規研究試料、手法の樹立にフィードバックする(図 3)。上記目的を効率的に達成することを目指し、研究項目 A01「ユビキチン修飾系による生体制御機構」と A02「ユビキチン修飾の識別、検出法の開発とその応用」を設け、A01 では主に種々のユビキチン修飾が制御する生命現象を、A02 では主に拡大するユビキチン修飾系の役割を解析するための解析ツールの開発研究を推進する(図 3)。各計画研究の2年間の進捗状況は以下の通りであり、ほぼ順調に推移していると考えている。

研究項目 A01「ユビキチン修飾系による生体制御機構」

計画研究

A01 に属する計画研究4グループでは異なるユビキチン修飾、具体的には K6 鎖、K63 鎖、直鎖(M1 鎖)などのポリユビキチン鎖、モノユビキチンとユビキチンタンパク質自身の修飾に着目しつつ、DNA 相同組換え修復、転写、膜タンパク質動態制御、刺激伝達に関する研究を推進している。

岩井(計画研究 01)は世界に先駆けて発見した直(M1)鎖に関してその生理学のおよび病理学的役割の解析と直鎖状ポリユビキチン鎖の解析ツールの開発を進めている。直鎖状ポリユビキチン鎖は免疫応答、炎症、細胞の生存などに関わる NF- κ B の種々の刺激依存的な活性化に関与する。直鎖状ポリユビキチン鎖を選択的に形成する LUBAC ユビキチンリガーゼは HOIP、HOIL-1L、SHARPIN の3サブユニットから構成されており、HOIP が活性中心サブユニットである。前述の様にユビキチン修飾系はタイムリーにかつ選択的に標的タンパク質を認識してその機能を制御する。計画研究 08 の加藤と共同で、LUBAC による NF- κ B 活性化に関与する基質である NEMO の LUBAC による識別、直鎖状ユビキチン化された NEMO が NF- κ B 活性化を惹起するメカニズムを解明した(Mol. Cell. Biol. 2014)。LUBAC のアクセサリ・サブユニットの1つである SHARPIN が欠失した突然変異マウス cpdm は慢性皮膚炎等の全身の炎症、免疫不全を呈する。cpdm マウスの慢性皮膚炎発症メカニズムの解明にも取り組み、cpdm マウスでは直鎖状ポリユビキチン鎖生成能の減少が慢性皮膚炎発症の一因であることを示した(J. Immunol. 2014)。さらに、直鎖状ポリユビキチン鎖活性を完全に消失させれば、マウスは胎生期(E10.5)に死亡すること、コンベンショナルな B 細胞には正常に分化するが、エフェクター細胞としては機能しないことを見出した(EMBO J. 2013)。さらに、LUBAC リガーゼが TNF- α 依存的な細胞死の制御にも関与することや、B 細胞では ERK の活性化にも関与することなど、NF- κ B 活性化以外の役割も明確にしつつある。加えて、LUBAC と直鎖状ポリユビキチン鎖を切断する DUB の相互作用とその生理的な意義を解明するなど、直鎖状ポリユビキチン鎖の役割のみならず、ユビキチン修飾系の制御機構の一端の解明にも貢献している。疾患との関連に関しても LUBAC リガーゼが ABC DLBCL と呼ばれる B 細胞リンパ腫の発がんに関与することも見出している(Cancer Discov. 2014)。直鎖状ポリユビキチン鎖を選択的に識別する抗体の開発にも成功している(EMBO J. 2013)など、順調に進捗している。駒田、石戸(計画研究 02)は脱ユビキチン化酵素、ユビキチン識別タンパク質、ユビキチンリガーゼ、切断酵素による細胞膜タンパク質のリソソーム輸送研究の実績を踏まえ、脱ユビキチン化酵素を中心に受容体タンパク質の動態におけるユビキチン修飾系の役割を解析している。EGF 受容体はユビキチン修飾を受けて内在化し、リソソームに輸送されて分解される。そえゆえ、脱ユビキチン化酵素活性が亢進すれば、細胞表面に存在する EGF 受容体が増加し、腫瘍形成に関与する可能性が想定される。駒田は計画研究 07 の佐伯と共同で、EGF 受容体の内在化における脱ユビキチン化酵素の役割を明確

にしつつあり、ユビキチンの腫瘍発生への新たな関与を明らかにしつつある。大竹(計画研究 03)は自らが発見したユビキチン分子のアセチル化というユビキチン自身の修飾の研究を推進し、計画研究 07 の佐伯と共同で、培養細胞における内在性アセチルユビキチンの定量に成功するなど、アセチルユビキチンの解析技術確立した(投稿中)。計画研究 04 の太田は家族性乳がんの責任遺伝子の1つである BRCA1 ユビキチンリガーゼを中心に DNA 損傷応答、特に相同組換え修復(homology-directed repair: HDR)に重点をおいてユビキチン修飾系の役割を解析している。BRCA1 の新たな存在形態を明らかにし、BRCA1 の DNA の2本鎖切断修復におけるメカニズムの一端を明らかにして、乳がん発症との関連に迫りつつある。

公募研究

微生物、植物においてもユビキチン修飾系の役割が知られている。これまで我が国のユビキチン研究は動物、ヒトの研究者が中心であったが、公募研究として植物、微生物の研究者も領域に加わっている。山口はシロイヌナズナをモデル系にユビキチン修飾系の役割の研究を進め、真菌感染におけるユビキチン修飾系の役割の解明などの成果を挙げている。金は腸管感染細菌の毒素が宿主のユビキチン系をハイジャックして感染を成立させるメカニズムに関する成果を挙げつつある。また、ユビキチン修飾系はこれまで真核生物にのみ存在すると考えられてきた。金井は原核生物に真核生物のユビキチン修飾系に相同な修飾系が存在することを見出し、解析を続けている。また、松田は A02 の計画研究 07 の佐伯と質量分析で共同研究を推進し、ユビキチン分子のリン酸化の生理機能を世界で初めて見出して報告している。

研究項目 A02「ユビキチン修飾の識別、検出法の開発とその応用」

計画研究

嘉村、畠山(計画研究 05)は E3 ユビキチンリガーゼファミリーである Cullin 型、TRIM 型 E3 によってユビキチン化される基質の同定とその基質のユビキチン修飾による細胞制御機構を中心に解析を進めている。分解を指標とした質量分析や酵母ハイブリッド法などを用いてこれらのユビキチンリガーゼの新たな標的タンパク質をいくつか同定している。現在、その機能解析を進めており Cullin 型、TRIM 型 E3 が制御する新たな生命現象を明らかにしつつある。計画研究 06 の川原はポリユビキチン鎖識別タンパク質と共役してタンパク質の疎水性領域を選択的に認識する BAG6 を中心にポリユビキチン鎖識別+特異的タンパク質認識ドメインによるタンパク質品質管理機構の解析を推進している。計画研究 08 の水島・加藤、計画研究 07 の佐伯と積極的に連携し、BAG6 が新規合成された不良タンパク質を識別する分子メカニズムを明らかにしつつある。また、不良膜タンパク質を選択的に識別するユビキチン結合タンパク質を同定するなどの成果を挙げている。さらに、計画研究 02 の駒田と共同研究で、脱ユビキチン化酵素とユビキチン識別タンパク質複合体の協調作用を発見しており、ユビキチン修飾制御因子間の新たな関連を見出すなど、当初の計画では想定されなかった成果も挙げている。佐伯(計画研究 07)は本領域の技術開発の中核である質量分析技法を用いた世界トップレベルの検出系の樹立を手がけている。初年度に導入した最新鋭の質量分析計を用いて、高感度なポリユビキチン鎖の絶対定量法、ポリユビキチン化基質の効率的同定法などを樹立した。佐伯の樹立した解析技法は本領域にとって非常に有益であり、項目 2 に示した数多くの領域内共同研究を手がけているのみならず、領域外の研究者との共同研究にも着手している。これまでに達成した最も顕著な業績は、公募研究の松田と共同でリン酸化されたユビキチンによる Parkin ユビキチンリガーゼの活性化の成果である(Nature in press)。また、佐伯はユビキチン化タンパク質を選択的に分解するプロテアソームの細胞内における性質や動態の蛍光相関分析法を使った解析にも従事している。水島、加藤(計画研究 08)は従来からユビキチン修飾系の構造生物学に顕著な業績を残してきたことを踏まえ、本領域では構造解析に関する領域内共同研究を積極的に推進することを目指している。水島、加藤ともに本領域の kick off シンポジウム、班会議等の機会を利用して議論し、項目 2 に示す様に公募、計画研究のグループとの数多くの共同研究に着手している。水島は公募研究の金との、加藤は計画研究 01 の岩井との共同研究の成果をすでに誌上発表している。さらに、本領域発足後に新たに着手した共同研究でもすでに X 線構造解析に成功している案件があり、領域研究として順調に推移していると考えられる。

公募研究

ユビキチン研究の大きな課題の1つはユビキチンのポリマーであるポリユビキチン鎖の生成メカニズムである。標的タンパク質に結合したユビキチンに次々にユビキチンが結合してポリユビキチン鎖が形成されると考えられているが、あらかじめ形成されたポリユビキチン鎖が en bolc に標的タンパク質に結合する可能性も示唆されている。公募研究として本領域に参加している**紺野**は**高速 AFM**を用いた生化学反応の可視化に秀でている。紺野が使用している**高速 AFM**の時間分解能は高く、ユビキチン修飾反応の解析が可能であると考えられるので**計画研究 01**の**岩井**と共同で直鎖状ポリユビキチン鎖伸長反応を可視化し、ユビキチン研究の新たな解析手法の確立とユビキチン鎖生成メカニズム論争に決着をつけることを目指している。また、**栃尾**は X 線構造解析に加え、NMR による相互作用解析技法などの解析技術を用いて共同研究を推進している。

【応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したか】

近年の世界のユビキチン研究の進展は

1. 高感度化した質量分析技術によって、ユビキチンリガーゼの標的タンパク質の同定と多様なユビキチン修飾の識別と絶対定量が可能になったこと
2. 反応、制御する生命現象を理解し、かつそれらの解析技術を持ったユビキチン修飾系に特化した構造生物学者の参入

によるところが大きく、実際に世界のユビキチン研究は大きな変容を遂げつつある。

そのような世界の情勢を踏まえ、本領域では世界トップレベルのユビキチンに特化した質量分析を用いた解析技法の確立と構造生物学者とユビキチンのバイオロジーの研究者との緊密な連携を図り、これまで世界に互する業績を上げてきた我が国のユビキチン研究をさらに発展させることを目指している。

質量分析技術に秀でた**計画研究07**の**佐伯**の貢献もあり、領域研究開始年度に高分解能質量分析計を設置し、高感度検出系の樹立できた点は非常に大きな成果であった。実際に2年目から**公募研究**として加わった**松田**との共同研究で、翻訳後修飾因子であるユビキチンのリン酸化修飾が家族性パーキンソン病の責任遺伝子産物の**Parkin**ユビキチンリガーゼを活性化することを示し、世界で初めてユビキチンのリン酸化の生理機能の同定という、領域設定時には予期していなかった研究成果も得られている。

構造解析もユビキチン-プロテアソーム領域の構造解析に特化して研究を進めてきた**計画研究08**の**水島**を中心に数多くの緊密な共同研究が進展しており、想定以上の進展を見せている。

本領域では、領域研究者が樹立してきたユビキチン解析用試料、プロトコールなどを領域全体で共有するのみならず、領域内で見出された研究成果の新規研究手法の開発への応用を弾力的に進め、領域内で生み出された成果を有機的にかつ迅速に利用できる体制を構築することも目指している。

初年度に領域ホームページ内に計画研究代表者が責任者となる**研究情報交換窓口**を設置し、計画研究代表者らが樹立してきた研究試料、プロトコールなどを領域で共有している。さらに、平成25年10月からは公募研究者の持つ研究試料等の共有も開始しており、ユビキチン研究に関する研究試料、情報の交換が可能な体制もできあがっている。今後も研究情報交換窓口を拡大し、日本におけるユビキチン研究の研究資源の共有体制を構築したいと考えている。

4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

近年、生命科学は大きく発展し、現在進行中の新学術領域研究も神経、免疫、発生などの個別の生命現象に限定して研究を推進している領域がほとんどである。本領域は従来からユビキチン研究に従事してきた研究者を中心に、現在急速に発展しつつあるユビキチン研究の解析技法を整備し、それらを用いて**ユビキチン修飾系**の関与する広範な生命現象の研究者とともに、研究業績を発信することを目指している。すなわち、**多彩な生命現象の研究者が一同に会する点**が、他の新学術領域研究と大きく異なる点である。若手研究者の育成に関しても、本領域の特徴を活かした施策を行っている。

生命科学全般を俯瞰し、**多様な方法論、思考様式**を身につけた研究者は今後の生命科学の発展に不可欠な人材である。広汎な分野の研究者が集う本領域は生命科学全般に広い視野を持つ若手研究者の育成には最適の場であると考えられる。

本領域のもう1つの特徴は傑出した研究業績を有する30代(2名)、40代前半(1名)の**若手研究者を計画研究の研究代表者に配置**している点である。それらの研究者は次世代の研究者の目指すべき身近な目標となると考えられるので、それらの研究者を総括班の若手支援担当に抜擢して領域全体会議での若手発表コーナーの設置や、若手と計画研究者とのディスカッションを充実させるなど、以下の施策を実施している。

1. 領域全体会議

領域全体会議では計画研究の代表者および分担者、公募研究代表者が研究成果を発表する。それらの発表を聞き、自由に質問する機会を提供することは、若手研究者が広範な生命科学領域の知識、研究の進め方を知る上で非常に有益である。そこで、若手研究者が数多く領域全体会議に参加できるように、領域全体会議でのポスター発表を充実させている。自分の研究内容の要点を把握、伝えるようにポスター発表の研究概要をスライド1枚、1分間で発表を義務づけている。また、若手研究者が計画研究、公募研究者に自由に質問できる交流の時間を設けている。

2. 若手発表会の開催

若手研究者が論理的に自分の研究内容を発表する機会として、若手発表会を開催している。平成25年度は多くの研究者に評価してもらえる様に、領域全体会議と同時開催として優秀発表者は表彰した。非常に高いレベルの発表が多く、参加した計画研究、公募研究の研究者からは高い評価を受けている。

3. 若手ワークショップの開催

国際的な視点、海外の研究者と互して研究を推進していく事が出来る様に、若手研究者が「世界に触れる」ことが必要であると考えている。本領域では平成26年度に海外の気鋭のユビキチン研究者数名を招聘し、国際ワークショップを開催するが、その際に若手ワークショップを同時開催することを計画している。若手ワークショップは英語での口頭発表、ポスター発表を計画しており、海外から招聘する研究者には若手ワークショップにディスカッサントとして参加し、全ての発表にコメントをして頂く内諾を得ている。

5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

1. 高分解能質量分析計の設置

本新学術領域研究の目的の1つは世界トップレベルのユビキチン解析手法の確立である。世界のユビキチン研究と比べ、日本のユビキチン研究の弱みはユビキチンに特化した高いレベルの質量分析技術を有した研究者の不足であった。幸いにも、長年ユビキチン-プロテアソーム研究に従事してきた、公益財団法人東京都医学総合研究所の佐伯(計画研究 07)が、これまでもユビキチン関連の研究に質量分析技術を応用した経験を持っていたので、実質的には領域全体の共通機器として、平成 24 年度に佐伯の研究室に高分解能質量分析計 (Thermo 社 Q Exactive) を導入し、ユビキチン修飾の高感度絶対定量法やユビキチン化基質の網羅的同定法の確立を目指した。平成 24 年度中にそれらの技術を確立出来た。

項目 2, 3 に記載したように、平成 25 年度からは領域内の各研究者に佐伯との共同研究として広く使われており、計画研究 01 の岩井との共同研究(Genes Cells 2014)、公募研究の松田との共同研究(Nature In press)の様に、すでに誌上発表した成果もある。

2. 研究情報交換窓口の設置

本新学術領域研究では領域内共同研究の推進、領域内で見出された研究成果の新規研究手法の開発への応用を弾力的に進め、領域内で生み出された成果を有機的かつ迅速に利用できる体制:ユビキチン研究プラットフォームの構築を進めている。その一環として、総括班の経費で設置した領域ホームページに研究情報交換窓口を設け、領域研究者が有するユビキチン解析試料・手法等を掲載している。

平成 25 年 4 月に計画研究の研究者、10 月に公募研究の研究者から本領域の研究者に提供可能な試料・手法等の提供を受けて掲載している。平成 26 年 3 月までに登録済みのサンプル数は総計 300 件であり、その内訳は、研究試料 287 件 (DNA213 件、抗体 21 件、タンパク質・バキュロウイルス 31 件そして変異株・遺伝子改変生物 22 件)、実験プロトコール 10 件、受託解析 3 件である。平成 26 年度中に新規に開発された研究試料・手法等を研究情報交換窓口に掲載し、さらなる充実を図る予定である。

なおこれまでに、総括班メンバーが把握している研究情報交換窓口の利用回数は総計 15 回で、その内訳は、研究試料 13 回、実験プロトコール 1 回、そして受託解析 1 回である。

3. ユビキチンフォーラムの設置

ユビキチンに関連する論文を紹介して議論する場として、総括班の経費を用いてユビキチンフォーラムを開設している。簡潔に伝えたい内容を文章にするトレーニングの一環として、若手研究者とには抄読会などで読んだユビキチン関連論文の概要をまとめて発表することを推奨している。

4. 広報活動

平成 24 年度に領域ホームページを設置した。ユビキチン修飾系の研究は日進月歩であり、常に最新の情報を入手する必要がある。そこで、総括班メンバーなどが参加した国際学会のトピックなどをホームページで紹介し、領域内研究者に迅速に周知している。また、総括班の経費を用いて班員の紹介や領域に関連した国際学会の情報、ユビキチン研究の動向などを紹介するニュースレターや、アウトリーチ活動の細に利用できる領域ロゴシールを作成して、領域の研究活動の周知にも努めている。

領域全体会議、Kick-off シンポジウムを開催するときの会議費や旅費等は総括班から支出することで領域の円滑な運営を進めている。また、広報活動及び計画の企画調整を担当していた研究協力者を雇用し、領域の事務作業を担当していただいている。

6. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

【田中 啓二:東京都医学総合研究所・所長】

タンパク質の修飾は、リン酸化、メチル化、アセチル化など数多く存在する。これらは限られた遺伝情報を増幅して多様性を獲得するための進化の卓越した戦略である。なかでもユビキチン化は、発見されて四半世紀を遙に超すが、依然として多くの謎に包まれている。しかしユビキチン修飾の多様性は、リン酸化修飾の多様性を凌駕しており、2004年にタンパク質分解シグナルとしての役割がノーベル賞に輝いたが、それは序章に過ぎず、一つの謎の解明がまた新たな謎を呼ぶといった成長期の科学に見られる状況の真っ直中にある。ユビキチン修飾は他の修飾反応と同様に可逆的（多数の脱ユビキチン酵素が存在）であり、（標的分子を除いても）関連するタンパク質群は、全ゲノム遺伝子総数の約5%を占める。そして現在、その病態生理学的意義は、止まるところを知らない勢いで拡大の一途を辿っている。この状況を俯瞰すると、「ユビキチンネオバイオロジー」の提案は、時代の要請に応えた真に適切な研究領域であると判断できる。しかし、その重要性を鑑みると研究の競合は世界的に激しさを増し、この状況において如何にして獨創性・新規性を発揮するか、その成果を社会に還元するか等が問われているといえる。この状況に適切に対応するためには、世界を席卷する研究実績の基盤的な確立が必須である。このような背景のもと、発足した新学術領域「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」は、丁度2年間を経た段階であり、本班の総括班評価者は、班員が一堂に会する発表会に参画して研究進捗状況を適宜監視するとともに若手の育成などについても必要な批判・評価・助言を行ってきた。

本班が「A01 ユビキチン修飾系による生体制御機構」と「A02 ユビキチン修飾の識別、検出法の開発とその応用」から構成されていることは適切であると判断する。とくにユビキチン化（モノ化修飾の他、8種のポリ鎖、分岐鎖、混合鎖修飾など）の多様性を考えると、鋭敏な解析技術の確立が不可欠であるが、A02における班員（佐伯）の高感度質量分析計を駆使した技術は、世界最高レベルであり、多くの班員との共同解析が進行中であることは、新学術組織の妥当性が窺われる。またユビキチン鎖の特性・動態をX線結晶構造解析・NMR（核磁気共鳴法）・高速AFM（原子間力顕微鏡）などの最先端技術で迫る課題が計画（水島）・公募（紺野・栃尾）から採択されていることも適切である。さらにこのような物性研究とは別に標的分子の生化学的・細胞生物学的手法による網羅的解析技術（嘉村・川原）も格段の進歩を遂げており、将来が期待される。これらの研究成果については、一部が論文となっているが、得られた成果の多くが未だ十分に公表されていない段階であり、今後、優れた論文として発表されることを期待したい。

他方、A01はユビキチン化修飾の生物学の解明を目指しており、4名（岩井・駒田・太田・大竹）の計画班員に加えて14名の公募班員を採択している。中でも領域代表の岩井らの研究は突出した成果を挙げた。昨年から本年に至るユビキチン国際学会の大きな柱の一つが、直鎖状ユビキチン修飾の構造生物学を土台とした分子機構と生理的及び病態的意義の解明であることは、講演者の質を勘案すると衆目の一致するところである。岩井らは、このユビキチン直鎖の存在とこの生成反応を触媒するE3酵素としてLUBAC（HOIP,HOIL-1L,SHARPIN複合体）を発見して、これまでK48鎖、K63鎖が研究の主流であった状況を一変させ、ユビキチン世界に新たな分野を創成した。そしてこの直鎖状ユビキチン修飾が細胞の主たるシグナル系である転写因子NF- κ Bの活性化を引き起こすことを併せて発見し、世界を驚かせた。この研究は、本班の活動においても免疫学的役割の解明や直鎖状ユビキチン鎖を識別する抗体の開発など、継続して大きな成果を挙げている。その他、多くの生体制御機構における成果が続出しているが、世界的に注目度の高い研究が公募班員を含めて見られることは、本新学術を立ち上げた大きな功績となっている。例えば、パーキンソン病の発症に関与するPINK1（タンパク質リン酸化酵素）とParkin（ユビキチン連結酵素）が膜電位の低下した不良ミトコンドリアを除去する仕組みについて精力的に解析し、世界的な激しい競争にも関わらず、PINK1の活性制御機構（Nat Commun 2012）やParkinの活性制御機構（Nature 2014）において世界を先導する成果を挙げた。とくにParkinの活性化にユビキチンのリン酸化修飾が関与するという発見は、世界の研究者たちを瞠目させた。また大竹らは、ユビキチンがアセチル化修飾を受けることを見出しており、これらの研究は獨創性において世界を先導する研究であり、高く評価できる。また金井らは、原核生物のユビキチン修飾系を発見し、これまでユビキチンが真核生物に特有のシステムであると考えられていた概念の変容を迫るとともにユビキチン修飾系の分子進化研究にも大きな影響を与えるものとして注目に値する研究と位置づけられる。その他個別には、優れた研究が多く、全てを評価できないが、計画班員のみならず公募班員間での相互連携が活発に稼働しており、本新学術領域を創成した目的が、確実に成果を挙げている状況と判断できる。本新学術領域は、開始後実質2年間の研究期間であるが、これまでに未来の大きな発展を予感させる多くの糸口が見出されており、後期においてはこれらの学術的な成熟と人材の発掘が不可決であると思われる。そしてなによりも、優れた研究成果をインパクトの高い論文として国内外に幅広く発信してゆくことが必要である。

【大隅 良典:東京工業大学・フロンティア研究機構・特任教授】

本領域は近年さらに広がりを見せるユビキチン修飾の多様性と、その広範な生理機能の解明を図るという、まさしく時期を得た提案である。この2年間、領域代表者のリーダーシップのもとに、公募班員を迎えて大変順調に進展している。従来の生化学的な解析に加えて今日の研究展開に必要な構造解析、分子動態解析、質量分析等の新しい先端技術を導入し領域全体で共有しながら研究を展開しようとしている点も多いに評価できる。公募班員も含めて若手も組織されており、今後具体的な成果として結実し、この領域の今後を支える人材が残された3年も含めて育つことも期待される。

この2年で国際的にも高い評価を得るに相応しい成果が既に多数得られている。直鎖ユビキチン鎖の生物学、

ユビキチン自身のリン酸化、アセチル化などの修飾、さらにはそれらと病態への展開などである。この領域はこれまでも国際的に我が国の貢献が広く知られた領域であったが、この領域研究の期間中に、各班員が成果を国際会議で発表して、あらためて世界をリードすることを意識的に追求して欲しい。

【永田 和宏:京都産業大学・統合生命科学部・教授】

従来、ユビキチンはプロテアソームとリンクして、もっぱらタンパク質の分解のためのメカニズムとして理解されてきたが、本新学術研究「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」では、ユビキチン修飾系を、分解以外にも複合体形成、局在変化、活性化などの多様な様式でタンパク質機能を調節することにより多彩な生命現象の制御という観点から捉えており、まさに「ネオバイオロジー」と呼ぶにふさわしい、時宜を得た提案となっている。計画班員ならびに公募班員は、それらの新しいユビキチンバイオロジーを多彩な角度から研究するのに、ふさわしい陣容となっている。視点が新しいだけでなく、高感度質量分析によるユビキチン鎖の解析技術や、X線結晶解析・NMR、および高速AFMなどの新技術を用いて、従来は困難であったユビキチン鎖の動態やその多様性解析を可能にしたことは、本研究班の大きな成果の一つである。

研究代表者の岩井は、目配りの行き届いた班運営によって、班員がそれぞれ有機的にかつ強い独自性を発揮して成果を生みだせる環境を構築している。岩井自身の研究としての直鎖状ユビキチン鎖に関する研究は国際的にも大きな注目を集めているところであり、他にもPINK1, Parkinによるミトコンドリア除去に仕組み、ユビキチン自体のアセチル化やリン酸化といった修飾なども今後大きな注目を集めることと思われる。研究の質は高く、この領域において、この研究班が国際的にも大きな役割を果たしていくものと十分に期待できる。

【白川 昌宏:京都大学・大学院工学研究科・教授】

提案されているのは、かつては細胞内タンパク質の分解系における役割のみが知られていたユビキチン系の役割を、免疫、DNA修復、オルガネラの品質管理など多彩な細胞機能におけるシグナリング因子へと拡張して捉え、それを分子生物学、細胞生物学、生物物理学、構造生物学等を専門とする幅広い研究者からなるチームで総力的に解明を目指す、大変有望なアプローチである。研究組織の2つの大きな特色は、手法の開発に重きを置いている点と若手育成に熱心であるところにあるだろう。計測機器や生体試料を提供し共有していることも、研究の高能率化に大きく貢献しているように思われる。これはユビキチンが細胞内でリン酸化やアセチル化を受けていることを見出し、リン酸化の生物学的意義を明らかにした松田、佐伯らの研究業績に象徴的に表れている。また本研究グループは構造生物学も重点的に取り上げている。つまり原子レベルのタンパク質等の動作機構から、個体レベルの臨床面までを包括的に捉えることを目指しているわけで、大変有意義だと思われる。またこういった構造学的・生物物理学的アプローチは、架橋タイプで異なる生命現象を制御するポリユビキチン鎖の分子形態や認識機構を解明し、なぜユビキチンがかくも広範な細胞機能を担う事が可能かを明らかにすると期待される。

【水島 昇:東京大学・大学院医学系研究科・教授】

本領域は、これまでは主に分解や細胞内輸送との関連で論じられてきたユビキチンを、より多様な視点からその機能、制御、構造を明らかにしようとするものである。多彩な研究バックグラウンドと手法をもったレベルの高い研究者からなるグループで有り、この領域を推進するのにふさわしい陣容である。加えて、領域代表者の岩井は幅広い知識と優れた研究実績をもとにリーダーシップを発揮して、この領域をうまくオーガナイズしている。研究成果も着実にでており、特に、直鎖状ユビキチン鎖連結酵素LUBACによる基質認識機構や医学的重要性、家族性パーキンソン病原因遺伝子産物Parkinの活性化機構の解明など、重要な研究課題に対して国際的に高く評価される結果を得ている。現在進行中の研究の中にもきわめて質が高いものや有用なツール・技術開発が含まれており、後半期の進捗が楽しみである。また、あえて指摘するまでもないが、これらの発表済みあるいは進行中の研究成果の中には多くの領域内共同研究がある。特に、質量分析や構造生物学を得意とする計画班を含めている点が奏効しており、本領域の構成が期待どおり機能していることが実証されている。さらに、活発な会議、若手育成、HPでの研究紹介、WEBフォーラムなどを通じて、研究のセンターとしても十分に機能していると言える。

【村田 茂穂:東京大学・大学院薬学系研究科・教授】

本研究領域は、新時代のユビキチン研究を遂行するために、領域代表の高いリーダーシップのもと、単なる寄せ集めではない機能的な組織が構築されている。そのコアの一つとなる技術が超高感度質量分析であり、領域内の共同研究に積極的に活用されている。その成果の一つとして、ユビキチンのリン酸化による制御という、まさに「ユビキチンネオバイオロジー」を切り開く特筆すべき研究成果が挙がっており、領域内の連携と共同研究が効果的に進展していることがうかがえる。公募研究では、高速AFMやケミカルバイオロジーなど、これまでこの分野にはなかった新しい技術を有する研究者が参画してより厚みのある研究組織が構築され、今後の研究の進展に期待が寄せられる。

領域会議では、若い大学院生・ポスドクと当該分野の一流研究者が一堂に会して議論を深めることができおり、さらに若手中心の独立したプログラムも組まれており、当研究分野の若手育成の観点からも十分評価できる。今後は、現在遂行中の数多くの共同研究から質の高い論文が多数発表されることが望まれる。

7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、現在から順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

A01「ユビキチン修飾系による生体制御機構」

計画研究

岩井(計画研究 01)は世界に先駆けて発見した直鎖状ポリユビキチン鎖の研究を推進している。直鎖状ポリユビキチン鎖は HOIP、HOIL-1L、SHARPIN から構成されている LUBAC リガーゼによって選択的に生成される。SHARPIN が欠失した突然変異マウス cpdm はケラチノサイトの細胞死を特徴とする慢性皮膚炎をはじめとした全身の炎症を呈するが(Nature 2011)、HOIL-1L を欠損したマウスは顕著な症状を示さない(Nature Cell Biol. 2009)。cpdm、HOIL-1L KO マウスいずれにおいても、残存する 2 つのサブユニットから構成される LUBAC が少ないながらも残存しているので、cpdm マウスの症状発現には SHARPIN の欠損が細胞死を亢進するためと考えられてきた。岩井は cpdm マウスにインターフェロン- α 、 γ を投与することにより HOIP の発現が増強すること、その結果、皮膚炎が改善することを見出し、SHARPIN の欠損のみならず、LUBAC の量、すなわち直鎖状ポリユビキチン鎖生成能の減少が慢性皮膚炎発症の一因であることを示した(J. Immunol. 2014)。LUBAC は IKK 複合体の NEMO に直鎖状ポリユビキチン鎖を結合させて NF- κ B を活性化することが知られていたが、B 細胞特異的に LUBAC のリガーゼ活性を消失させた B-HOIP Δ linear マウスを用いて、LUBAC は NF- κ B のみならず ERK の活性化にも関与することを示した(図 4) (EMBO J. 2013)。さらに NF- κ B 活性化には LUBAC のリガーゼ活性が必要な経路と不要な経路があることも示した(EMBO J. 2013)。加えて、疾患との関連に関する研究を進め、LUBAC リガーゼが ABC DLBCL と呼ばれる B 細胞リンパ腫の発がんに関与することも見出している(Cancer Discov. 2014)。

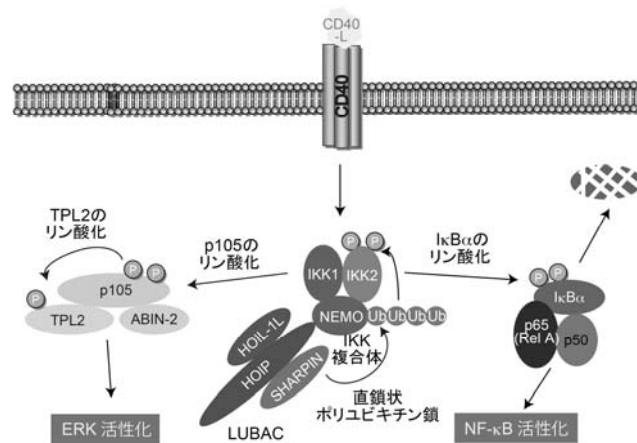


図 4 直鎖状ポリユビキチン鎖 NF- κ B、ERK の活性化

駒田、石戸(計画研究 02)は脱ユビキチン化酵素を中心に受容体タンパク質の動態におけるユビキチン修飾系の役割の解析を進めた。ユビキチン間結合を切断する脱ユビキチン化酵素の中、明確なユビキチン結合ドメインを有するものは数少ない。Usp37 のユビキチン結合ドメインの役割を解析し、脱ユビキチン化酵素活性の上昇に関与することを明らかにした(J. Biol. Chem. 2014)。大竹(計画研究 03)は自らが発見したユビキチン分子のアセチル化というユビキチン自身の修飾の研究を推進し、計画研究 07 の佐伯と共同で、培養細胞における内在性アセチルユビキチンの定量に成功した。さらにアセチル化ユビキチン生成の分子制御機構についても解析を進めている(投稿中)。

公募研究

松田は家族性パーキンソン病の責任遺伝子産物であり、ミトコンドリアの品質管理に関わる Parkin ユビキチンリガーゼの活性調節機構の研究に従事しているが、計画研究 07 の佐伯と共同して画期的な発見を成し遂げた。Parkin は品質が低下したミトコンドリアに PINK1 キナーゼ依存的に移行して活性化されることが知られているが、その詳細な分子メカニズムは不

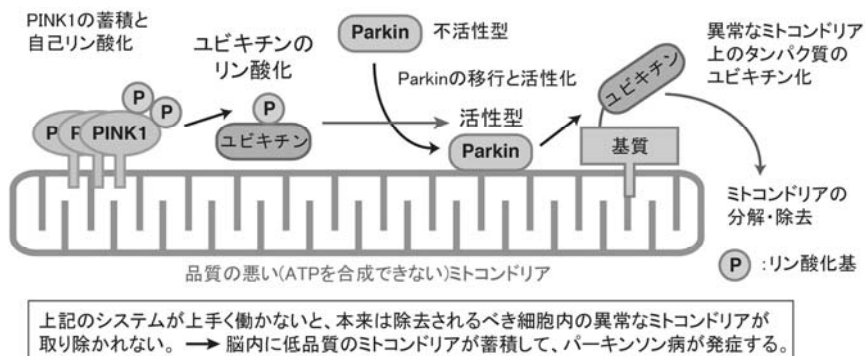


図 5 ユビキチンのリン酸化による Parkin リガーゼの活性化

明であった。松田と佐伯は質量分析解析を用いて PINK 1 がユビキチンをリン酸化すること、その結果生じたリン酸化ユビキチンが Parkin のユビキチンリガーゼ活性を活性化することがパーキンソン病の発症を防ぐプロセスの一端であることを明らかにした(Nature In press)。本研究成果は毎日新聞や、NHK ニュース、Yahoo ニュースなどでも取り上げられた。藤木はペルオキシソームへのタンパク質輸送におけるユビキチン修飾系の役割の解析を進め、Pex5p の Lys 残基のマルチ-モノ Ub 化、Lys520 のモノ Ub 化がペルオキシソームへのマトリクスタンパク質輸送に関与することを示した (J. Biol. Chem. 2014)。これまでに Pex5p の Cys 残基へのモノユビキチン化修飾がペルオキシソームへのタンパク質輸送に関与することと合わせれば、異なる 3 種のユビキチン修飾によってペルオキシソームへの調節されることは非常におもしろく、その役割分担の解析が期待される。西山は鉄代謝制御におけるユビキチン修飾系の役割の解析を進めている。細胞の鉄代謝は鉄代謝制御因子 IRP2 が、鉄存在下でのみ FBXL5 リガーゼに認識されて分解されることで制御されている。それゆえ、FBXL5 の存在量の調節は鉄代謝制御機構の理解に不可欠である。西山らは FBXL5 が HERC2 リガーゼによる恒常的な分解制御を受けていることを発見し、鉄代謝制御にはユビキチンリガーゼによる二重の制御機構が存在することを明らかにした (図 6) (J. Biol. Chem. In press)。山口はシロイヌナズナを用いて植物の膜局在型ユビキチンリガーゼ ATL31 が膜交通関連タンパク質 SNARE にメンバー-SYP121 と相互作用して、うどんこ病抵抗性に関係する細胞壁形成に関与することを示し(Plant Physiol. 2014)、真菌感染におけるユビキチン修飾系の役割の一端を明らかにした。時計タンパク質 CRY は、FBXL3 によるユビキチン化に伴い分解促進されるのに対し、FBXL21 によるユビキチン化に伴い安定化される (Cell 2013)。深田は CRY の分解促進、安定のスイッチングの鍵分子として脱ユビキチン化酵素 USP7 を同定した (論文準備中)。さらに、CRY ユビキチン化の起点となるリン酸化部位にアミノ酸変異を導入したノックインマウスを作製し、この行動リズムと遺伝子発現の概日リズムに顕著な異常を見出した (論文投稿中)。北川は組織線維化におけるユビキチン修飾系の解析を進め、肺線維化では Th2 分化傾向が大きな要因であるが、Th2 分化の中核である転写因子 GATA3 が SCF^{Fbw7} リガーゼによってリン酸化依存的に分解に導かれること、Fbw7cKO マウスでは胸腺細胞で GATA3 が蓄積することを示し、ユビキチン修飾系の異常が肺線維化を促進する可能性を見出した (Mol. Cell. Biol. 2014)。小松は RNF20 リガーゼによるヒストン H2B のユビキチン化がクロマチンリモデリングを誘導することで DNA 相同組み替え修復の初期に重要な役割を果たす頃を見出していたが、ヒストンシャペロン FACT が RNF20 を修復部位へのリクルートすることを見出した(J. Cell Sci. 2014)。

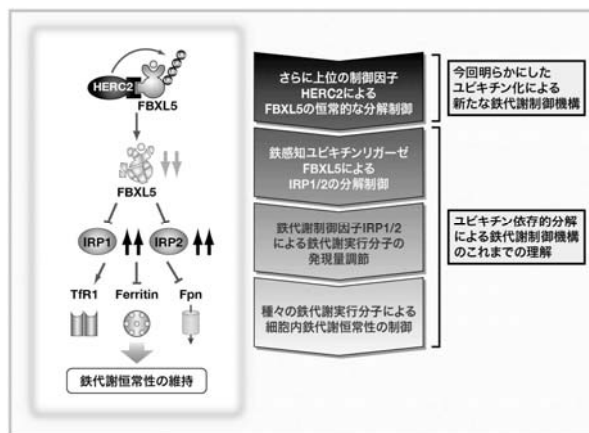


図 6 ユビキチンによる鉄代謝制御機構

A02「ユビキチン修飾の識別、検出法の開発とその応用」

計画研究

佐伯(計画研究 07)は高感度なポリユビキチン鎖の絶対定量法、固定試料からのユビキチン化基質、ポリユビキチン鎖同定方法等を用いて領域内共同研究を推進し、研究項目 01 の公募研究の松田と共同でリン酸化されたユビキチンによる Parkin ユビキチンリガーゼの活性化という画期的な成果を挙げている (図 5)(Nature in press)。また、佐伯はユビキチン化タンパク質を選択的に分解するプロテアソームの細胞内動態を蛍光相関分析法により解析し、プロテアソームはほぼ完成体として存在すること、細胞質や核内のプロテアソームの約半数が何らかの細胞小器官や、転写マシナリーと相互作用していること、これまで核内で組み立てられ完成すると考えられていたプロテアソームが細胞質で完成した後に核内に移行することを示した(Nature Comm. 2014)。加藤(計画研究 08)は計画研究 01 の岩井と刺激依存的な NF-κB 活性化に関与する LUBAC による NEMO の認識メカニズムの解析をすすめ、ユビキチン結合ドメインである NZF が基質認識にも関与することを構造生物学を用いて証明した。HOIP は NZF1 ドメインで NEMO を認識するが、NZF1 は NEMO とユビキチンとに異なった領域で同時に結合することができ、そのユビキチン結合能は LUBAC の刺激された

リガンド受容体へのリクルートに、NEMO 結合能は NEMO を直鎖状ユビキチン化して NF- κ B の活性化に導く 2 つの機能を有していることを示した(Mol. Cell. Biol. 2014)。

嘉村(計画研究 05)は小胞体内腔の構造異常タンパク質は ERAD (ER-Associated Degradation) と称される分解系で、サイトゾルへ逆行輸送された後プロテアソームによって分解される。ERAD 基質を認識してユビキチン化する膜貫通型 E3 リガーゼ Hrd1 が、小胞体内腔タンパク質に膜透過に関与する可能性を示した (Mol. Biol. Cell 2013)。計画研究 06 の川原はポリユビキチン鎖識別タンパク質と共役してタンパク質の疎水性領域を選択的に認識し、新たに合成途上で不良品になった合成不良タンパク質に品質管理に関与している BAG6 の N 末端側領域に、ポリユビキチン化された新合成タンパク質と高い親和性を持つ新規な BUILD ドメインを同定し疎水性を露出した凝集性ポリペプチドを認識して凝集を防ぐことを見出した(投稿中)。水島は構造解析に関する領域内共同研究を積極的に推進している。赤痢菌エフェクタータンパク質 OspI はユビキチン結合酵素 Ubc13 を脱アミド化することにより、宿主の自然免疫応答を制御しているが、水島は公募研究の金と共同で OspI と UBC13 の複合体構造を決定し OspI による Ubc13 認識機構を明らかにした(J. Mol. Biol. 2013)。

公募研究

析尾はユビキチン修飾に関与する分子の構造解析を進めており、ユビキチン化された基質タンパク質を分解する「選択的オートファジー」に深く関わる p62 タンパク質の UBA ドメインの構造を決定した(J. Biol. Chem. 2014)。

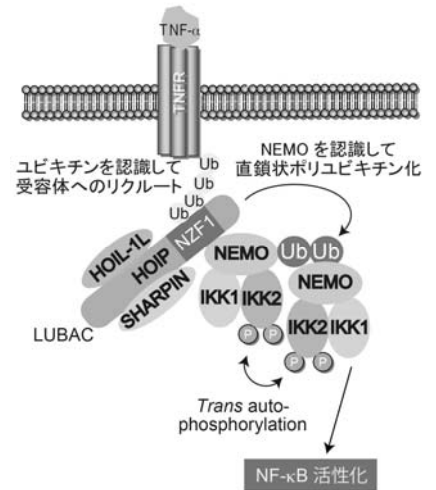


図7 HOIPのNZF1の2つの機能

8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、現在から順に発表年次をさかのぼり、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

1. 主な論文および書籍 括弧内は総論文・総説数

計画研究

岩井 一宏 (12)

1. *Iwai, K., Fujita, H., and Sasaki, Y. (2014) Linear ubiquitin chains: NF- κ B signalling, cell death, and beyond. **Nature Rev. Mol. Cell Biol.** In press.
2. Rodgers, M. A., Bowman, J., Fujita, H., Orazio, N., Shi, M., Liang, Q., Amaty, R., Kelly, T. J., Iwai, K., Ting, J., and *Jung, J. U. (2014) The linear ubiquitin assembly complex (LUBAC) is essential for NLRP3 inflammasome activation. **J. Exp. Med.** In press.
3. Tamiya, H., Terao, M., Takiuchi, T., Nakahara, M., Sasaki, Y., Katayama, I., Yoshikawa, H., and *Iwai, K. (2014) IFN- γ or IFN- α ameliorates chronic proliferative dermatitis by inducing expression of linear ubiquitin chain assembly complex. **J. Immunol.** 192, 3793-3804. doi: 10.4049/jimmunol.1302308.
4. Yang, Y., Schmitz, R., Mitala, J. J. Jr., Whiting, A., Xiao, W., Ceribelli, M., Wright, G. W., Zhao, H., Yang, Y., Xu, W., Rosenwald, A., Ott, G., Gascoyne, R. D., Connors, J. M., Rimsza, L. M., Campo, E., Jaffe, E. S., Delabie, J., Smeland, E. B., Brazier, R. M., Tubbs, R. R., Cook, J. R., Weisenburger, D. D., Chan, W. C., Wiestner, A., Kruhlak, M. J., Iwai, K., Bernal, F. and *Staudt, L. M. (2014) Essential role of the linear ubiquitin chain assembly complex in lymphoma revealed by rare germline polymorphisms. **Cancer Discov.** 4, 480-493 doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0915
5. Fujita, H., *Rahighi, S., Akita, M., Kato, R., Sasaki, Y., Wakatsuki, S. and *Iwai, K. (2014) Mechanism underlying IKK activation mediated by the linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC). **Mol. Cell. Biol.** 34, 1322-1335. doi: 10.1128/MCB.01538-13
6. Takiuchi, T., Nakagawa, T., Tamiya, H., Fujita, H., Sasaki, Y., Saeki, Y., Takeda, H., Sawasaki, T., Buchberger, A., Kimura, T. and *Iwai, K. (2014) Suppression of LUBAC-mediated linear ubiquitination by a specific interaction between LUBAC and the deubiquitinases CYLD and OTULIN. **Genes Cells.** 19, 254-272. doi: 10.1111/gtc.12128
7. *Sasaki, Y., Sano, S., Nakahara, M., Murata, S., Kometani, K., Aiba, Y., Sakamoto, S., Watanabe, Y., Tanaka, K., Kurosaki, K., and *Iwai, K. (2013) Defective immune responses in mice lacking LUBAC-mediated linear ubiquitination in B cells. **EMBO J.** 32, 2463-2476. doi: 10.1038/emboj.2013.184.
8. Blackwell, K., Zhang, L., Workman, L.M., Ting, A.T., Iwai, K., *Habelhah, H. (2013) Two coordinated mechanisms underlie TNF α -induced immediate and delayed IKK activation. **Mol. Cell. Biol.** 33, 1901-1915. doi: 10.1128/MCB.01416-12.
9. *Tokunaga, F., Nishimasu, H., Ishitani, R., Goto, E., Noguchi, T., Mio, K., Kamei, K., Ma, A., Iwai, K. and *Nureki, O. (2012) Specific recognition of linear polyubiquitin by A20 zinc finger 7 is involved in NF- κ B regulation. **EMBO J.** 31, 3856-3870. doi: 10.1038/emboj.2012.241.

駒田雅之、石戸 聡 (5)

1. Tanno, H., Shigematsu, T., Nishikawa, S., Hayakawa, A., Denda, K., Tanaka, T. and *Komada, M. (2014) Ubiquitin-interacting motifs confer full catalytic activity, but not ubiquitin chain substrate specificity, to deubiquitinating enzyme USP37. **J. Biol. Chem.** 289, 2415-2423. doi: 10.1074/jbc.M113.528372.
2. Ishikawa, R., Kajikawa, M. and *Ishido, S. (2014) Loss of MHC II ubiquitination inhibits the activation and differentiation of CD4 T cells. **Int. Immunol.** 26, 283-289. doi: 10.1093/intimm/dxt066
3. Tanno, H. and *Komada, M. (2013) The ubiquitin code and its decoding machinery in the endocytic pathway. **J. Biochem.** 153, 497-504. doi: 10.1093/jb/mvt028.
4. Li, X., Bian, Y., Takizawa, Y., Hashimoto, T., Ikoma, T., Tanaka, J., Kitamura, N., Inagaki, Y., Komada, M. and *Tanaka, T. (2013) ERK-dependent downregulation of Skp2 reduces Myc activity with HGF, leading to inhibition of cell proliferation through a decrease in Id1 expression. **Mol. Cancer Res.** 11, 1437-1447. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0718.
5. Oh, J., Wu, N., Baravalle, G., Cohn, B., Ma, J., Lo, B., Mellman, I., Ishido, S., Anderson, M. and *Shin, JS. (2013) MARCH1-mediated MHCII ubiquitination promotes dendritic cell selection of natural regulatory T cells. **J. Exp. Med.** 210, 1069-77. doi: 10.1084/jem.20122695.

太田 智彦 (2)

1. Watanabe Y, Maeda I, Oikawa R, Wu W, Tsuchiya K, Miyoshi Y, Itoh F, Tsugawa K.I, Ohta T. (2013) Aberrant DNA methylation status of DNA repair genes in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. **Genes to Cells.** 18(12), 1120-1130. doi: 10.1111/gtc.12100
2. Sato K, Sundaramoorthy E, Rajendra E, Hattori H, Jeyasekharan AD, Ayoub N, Schiess R, Aebbersold R, Nishikawa H, Sedukhina AS, Wada H, Ohta T., Venkitaraman AR. (2012) A DNA-Damage Selective Role for BRCA1 E3 Ligase in Claspin Ubiquitylation, CHK1 Activation, and DNA Repair. **Curr Biol.** 22, 1659-1666. doi: 10.1016/j.cub.2012.07.034

嘉村 巧、畠山 鎮次 (9)

1. *Nakatsukasa, K., Kamura, T. and *Brodsky, JL. (2014) Recent technical developments in the study of ER-associated degradation. **Current Opinion in Cell Biology.** in press. doi: 10.1016/j.ceb.2014.04.008
2. *Sato, T., Takahashi, H., Hatakeyama, S., Iguchi, A. and Ariga, T. (2014) The TRIM-FLMN protein TRIM45 directly interacts with RACK1 and negatively regulates PKC-mediated signaling pathway. **Oncogene** in press. doi: 10.1038/onc.2014.68.
3. Kanno, Y., Watanabe, M., Kimura, T., Nonomura, K., Tanaka, S. and *Hatakeyama, S. (2014) TRIM29 as a novel prostate basal cell marker for diagnosis of prostate cancer. **Acta Histochem.** in press. doi: 10.1016/j.acthis.2013.12.009.
4. *Yaguchi, H., Yabe, I., Takahashi, H., Okumura, F., Takeuchi, A., Horiuchi, K., Kan, T., Kanda, A., Saito, W., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S. and Sasaki, H. (2014) Identification of anti-Sez612 antibody in a patient with cerebellar ataxia and retinopathy. **J. Neurol.** 261, 224-226. doi: 10.1007/s00415-013-7134-5.

- Sato, Y., Yoshizato, T., Shiraishi, Y., Maekawa, S., Okuno, Y., Kamura, T., Shimamura, T., Sato-Otsubo, A., Nagae, G., Suzuki, H., Nagata, Y., Yoshida, K., Kon, A., Suzuki, Y., Chiba, K., Tanaka, H., Niida, A., Fujimoto, A., Tsunoda, T., Morikawa, T., Maeda, D., Kume, H., Sugano, S., Fukayama, M., Aburatani, H., Sanada, M., Miyano, S., Homma, Y., and *Ogawa, S. (2013) Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. **Nature Genetics** 45, 860-867. doi: 10.1038/ng.2699
- *Nakatsukasa, K., Brodsky, J.L. and *Kamura, T. (2013) A stalled retrotranslocation complex reveals physical linkage between substrate recognition and proteasomal degradation during ER associated degradation. **Mol. Biol. Cell** 24, 1765-1775. doi: 10.1091/mbc.E12-12-0907
- *Okumura, F., Okumura, A.J., Uematsu, K., Hatakeyama, S., Zhang, D.E. and *Kamura, T. (2013) Activation of double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR) by interferon stimulated gene 15 (ISG15) modification down-regulates protein translation. **J. Biol. Chem.** 288, 2839-2847. doi: 10.1074/jbc.M112.401851
- Kameda, Y., *Takahata, M., Komatsu, M., Mikuni, S., Hatakeyama, S., Shimizu, T., Angata, T., Kinjo, M., Minami, A. and Iwasaki, N. (2013) Siglec-15 Regulates Osteoclast Cytoskeletal Organization in Association with Signaling Adaptor DAP12. **J. Bone Mineral Res.** 28, 2463-2475. doi: 10.1002/jbmr.1989.
- *Ichimura, T., Taoka, M., Shoji, I., Kato, H., Sato, T., Hatakeyama, S., Isobe, T. and Hachiya, N. (2013) 14-3-3 proteins sequester a pool of soluble TRIM32 ubiquitin ligase to repress autoubiquitination and cytoplasmic body formation. **J. Cell Sci.** 126, 2014-2013.

川原 裕之 (1)

- *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

佐伯 泰 (6)

- Koyano, F., Okatsu, K., Kosako, H., Tamura, Y., Go, E., Kimura, M., Kimura, Y., Tsuchiya, H., Yoshihara, H., Hirokawa, T., Endo, T., Fon, E.A., Trempe, J., Saeki, Y., Tanaka, K. and *Matsuda, N. (2014) Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate Parkin. **Nature** in press. doi: 10.1038/nature13392.
- Pack, C.G., Yukii, H., Toh-e, A., Kudo, T., Tsuchiya, H., Kaiho, A., Sakata, E., Murata, S., Sako, Y., Baumeister, W., Tanaka, K. and *Saeki, Y. (2014) Quantitative live-cell imaging reveals spatio-temporal dynamics and cytoplasmic assembly of the 26S proteasome. **Nature Commun.** 5, 3396. doi:10.1038/ncomms4396.
- Takiuchi, T., Nakagawa, T., Tamiya, H., Fujita, H., Sasaki, Y., Saeki, Y., Takeda, H., Sawasaki, T., Buchberger, A., Kimura, T. and *Iwai, K. (2014) Suppression of LUBAC-mediated linear ubiquitination by a specific interaction between LUBAC and the deubiquitinases CYLD and OTULIN. **Genes Cells** 19, 254-272. doi: 10.1111/gtc.12128.
- Tsuchiya, H., Tanaka, K. and *Saeki, Y. (2013) The parallel reaction monitoring method contributes to a highly sensitive polyubiquitin chain quantification. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 436, 223-229. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.080.

水島 恒裕、加藤 龍一 (4)

- Fukutomi, T., Takagi, K., Mizushima, T., Ohuchi, N., and *Yamamoto, M. (2014) Kinetic, Thermodynamic and Structural Characterizations of Association between Nrf2-DLGex Degron and Keap1. **Mol. Cell. Biol.** 34, 832-846. doi: 10.1128/MCB.01191-13.
- Fujita, H., *Rahighi, S., Akita, M., Kato, R., Sasaki, Y., Wakatsuki, S., and *Iwai, K. (2014) Mechanism underlying IKK activation mediated by the linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC). **Mol. Cell. Biol.** 34, 1322-1335. doi: 10.1128/MCB.01538-13.
- Ichimura, Y., Waguri, S., Sou, Y., Kageyama, S., Hasegawa, J., Ishimura, R., Saito, T., Yang, Y., Kouno, T., Fukutomi, T., Hoshii, T., Hirao, A., Takagi, K., Mizushima, T., Motohashi, H., Lee, M., Yoshimori, T., *Tanaka, K., *Yamamoto, M., and *Komatsu, M. (2013) Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. **Mol. Cell** 51, 618-631. doi: 10.1016/j.molcel.2013.08.003.
- Nishide, A., *Kim, M., Takagi, K., Himeno, A., Sanada, T., Sasakawa, C., *Mizushima, T., (2013) Structural basis for the recognition of Ubc13 by the Shigella flexneri effector OspI. **J. Mol. Biol.** doi: 10.1016/j.jmb.2013.02.037.

公募研究

山口 淳二 (6)

- *Sako, K., *Yanagawa, Y., Kanai, T., Sato, T., Seki, M., Fujiwara, M., Fukao, Y. and Yamaguchi, J. (2014) Proteomic analysis of 26S proteasome reveals direct interaction with transit peptides of plastid protein precursors for degradation. **J. Proteome Res.** In press.
- Yasuda, S., Sato, T., Maekawa, S., Aoyama, S., Fukao, Y., *Yamaguchi, J. (2014) Phosphorylation of Arabidopsis ubiquitin ligase ATL31 is critical for plant C/N-nutrient response under control of 14-3-3 stability. **J. Biol. Chem.** online ahead of print. doi: 10.1074/jbc.M113.533133
- Aoyama, S., Huaranca Reyes, T., Guglielminetti, L., Yu, L., Morita, Y., *Sato, T., Yamaguchi, J. (2014) Ubiquitin ligase ATL31 functions in leaf senescence in response to the balance between atmospheric CO₂ and nitrogen availability in Arabidopsis. **Plant Cell Physiol.** 55, 293-305. doi: 10.1093/pcp/pcu002
- Maekawa, S., Inada, N., Yasuda, S., Fukao, Y., Fujiwara, M., Sato, T., *Yamaguchi, J. (2014) The carbon/nitrogen regulator ATL31 controls papilla formation in response to powdery mildew fungi penetration by interacting with SYP121 in Arabidopsis. **Plant Physiol.** 164, 879-887. doi: 10.1104/pp.113.230995
- Sun, H.H., Fukao, Y., Ishida, S., Yamamoto, H., Maekawa, S., Fujiwara, M., *Sato, T., Yamaguchi, J. (2013) Proteomics analysis reveals a highly heterogenous proteasome composition and the post-translational regulation of peptidase activity under pathogen signaling in plants. **J. Proteome Res.** 12, 5084-5095. doi: 10.1021/pr400630w

鈴木 隆史 (5)

- Hiramoto K, Satoh H, *Suzuki T., Moriguchi T, Pi J, Shimosegawa T, *Yamamoto M. (2014) Myeloid lineage-specific deletion of antioxidant system enhances tumor metastasis. **Cancer Prev. Res.** In press.
- Suzuki T., Shibata T, Takaya K, Shiraishi K, Kohno T, Hunitoh H, Tsuta K, Furuta K, Goto K, Hosoda F, Sakamoto H, Motohashi H, *Yamamoto M. (2013) Regulatory nexus of synthesis and degradation deciphers cellular Nrf2 expression levels. **Mol. Cell. Biol.** 33, 2402-2412. doi: 10.1128/MCB.00065-13.
- Kobayashi E, Suzuki T., *Yamamoto M. (2013) Roles Nrf2 plays in myeloid cells and related disorders. **Oxid. Med. Cell. Longev.** 2013, 529219. doi:10.1155/2013/529219.

稲田 利文 (3)

1. Matsuda, R., Ikeuchi, K., Nomura, S. and *Inada, T. (2014) Protein quality control systems associated with No-Go and Nonstop mRNA surveillance in yeast. **Genes Cells** 19, 1-12. doi: 10.1111/gtc.12106.
2. Kuroha K, Ando K, Nakagawa R, *Inada, T. (2013) The Upf Factor complex interacts with aberrant products derived from mRNAs containing a premature termination codon and facilitates their proteasomal degradation. **J. Biol. Chem.** 288, 28630-28640. doi: 10.1074/jbc.M113.460691.
3. *Inada, T. (2013) Quality control systems for aberrant mRNAs induced by aberrant translation elongation and termination. **Biochim Biophys Acta.** 1829, 634-642.

深田 吉孝 (3)

1. Pekovic-Vaughan, V., Gibbs, J., Yoshitane, H., Yang, N., Pathirana, D., Guo, B., Sagami, A., Taguchi, K., Bechtold, D., Loudon, A., Yamamoto, M., Chan, J., van der Horst G.T., Fukada, Y., *Meng, Q.J. (2014) The circadian clock regulates rhythmic activation of the NRF2/glutathione-mediated antioxidant defense pathway to modulate pulmonary fibrosis. **Genes Dev.** 28, 548-560, doi:10.1101/gad.237081.113.
2. Gossan, N.C., Zhang, F., Guo, B., Jin, D., Yoshitane, H., Yao, A., Glossop, N., Zhang, Y.Q., Fukada, Y., *Meng, Q.J. (2014) The E3 ubiquitin ligase UBE3A is an integral component of the molecular circadian clock through regulating the BMAL1 transcription factor., **Nucl. Acids Res.** 42, 5765-7575, doi:10.1093/nar/gku225
3. Hirano, A., Yumimoto, K., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Nakagawa, T., Lanjakornsiripan, D., *Nakayama, K.I., *Fukada, Y. (2013) FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes. **Cell** 152, 1106-1118, doi: 10.1016/j.cell.2013.01.054.

金 玖秀 (1)

1. Nishide A, *Kim M, Takagi K, Himeno A, Sanada T, Sasakawa C, *Mizushima T. (2013) Structural basis for the recognition of Ubc13 by the *Shigella flexneri* effector OspI. **J Mol Biol.** 425:2623-31, doi: 10.1016/j.jmb.2013.02.037.

北川 雅敏 (8)

1. Kitagawa, K., Shibata, K., Matsumoto, A., Matsumoto, M., Ohhata, T., Nakayama, K.I., Niida, H. and *Kitagawa, M. (2014) Fbw7 targets GATA3 through CDK2-dependent proteolysis and contributes to regulation of T-cell development. **Mol. Cell Biol.**, doi:10.1128/MCB.01549-13
2. *Fukasawa, H., Furuya, R., Yasuda, H., Fujigaki Y., Yamamoto, T., Hishida, A. and Kitagawa, M. (2014) Anti-cancer agent-induced nephrotoxicity. **Anticancer Agents Med. Chem.** 10.2174/1871520614666140127105809
3. Harada, M., Kotake, Y., Ohhata, T., Kitagawa, K., Niida, H., Matsuura, S., Funai, K., Sugimura, H., Suda, T. and *Kitagawa, M. (2014) YB-1 promotes transcription of cyclin D1 in human non-small-cell lung cancers. **Genes Cells** doi: 10.1111/gtc.12150
4. *Kotake, Y., Ozawa, Y., Harada, M., Kitagawa, K., Niida, H., Morita, Y., Tanaka, K., Suda, T. and Kitagawa, M. (2013) YB1 binds to and represses the p16 tumor suppressor gene. **Genes Cells** 18, 999-1006, DOI10.1111/gtc.12093
5. *Kitagawa, M., Kitagawa, K., Kotake, Y., Niida, H. and Ohhata, T. (2013) Cell cycle regulation by long non-coding RNAs. **Cell. Mol. Life Sci.** 70, 4785-4794, DOI10.1007/s00018-013-1423-0.
6. Suzuki, S., Ohashi, N. and *Kitagawa, M. (2013) Roles of the Skp2/p27 axis in the progression of chronic nephropathy. **Cell. Mol. Life Sci.** 70, 3277-3289, DOI10.1007/s00018-012-1232-x

小林 妙子 (2)

1. *Kobayashi, T. and *Kageyama, R. (2014) Expression dynamics and functions of Hes genes in development and diseases. **Curr Top Dev Biol.** In press.
2. Nagashima, F., Suzuki, I. K., Shitamukai, A., Sakaguchi, H., Iwashita, M., Kobayashi, T., Tone, S., Toida, K., Vanderhaeghen, P. and *Kosodo, Y. (2014) Novel and robust transplantation reveals the acquisition of polarized processes by cortical cells derived from mouse and human pluripotent stem cells. **Stem Cells Dev.** In press.

小松 賢志 (7)

1. Oliveira, D.V., Kato, A., Nakamura, K., Ikura T, Okada, M., Kobayashi, J., Yanagihara, H., Saito, Y., Tauchi, H. and *Komatsu, K. (2014) Histone chaperone FACT regulates homologous recombination by chromatin remodeling through interaction with RNF20. **J. Cell Sci.** 127, 763-772. doi: 10.1242/jcs.135855
2. Iwahori, S., Kohmon, D., Kobayashi, J., Tani, Y., Yugawa, T., Komatsu, K., Kiyono, T., Sugimoto, N. and *Fujita, M. (2014) ATM regulates Cdt1 stability during the unperturbed S phase to prevent re-replication. **Cell Cycle** 13, 471-481. doi: 10.4161/cc.27274
3. Ohara, M., Funiyu, Y., Ebara, S., Sakamoto, Y., Seki, R., Iijima, K., Ohishi, A., Kobayashi, J., Komatsu, K., Tachibana, A. and *Tauchi, H. (2014) Mutations in the FHA-domain of ectopically expressed NBS1 lead to Radiosensitization and to no increase in somatic mutation rates via a partial suppression of homologous recombination. **J. Radiat. Res.** In press. doi: 10.1093/jrr/rru011
4. Yoshida, T., Awaya, T., Shibata, M., Kato, T., Numabe, H., Kobayashi, K., Komatsu, K. and *Heike, T. (2014) Hypogonadotropic Hypogonadism and Hypersegmented Neutrophils in a Patient with Ataxia-Telangiectasia-Like Disorder: Potential Diagnostic Clues? **Am. J. Med. Genet. A** 9999, 1-5. doi: 10.1002/ajmg.a.36546
5. Saito, Y., Takeda, J., Okada, M., Kobayashi, J., Kato, A., Hirota, K., Taoka, M., Matsumoto, T., *Komatsu, K. and Isobe T. (2013) The proteasome factor Bag101 binds to Rad22 and suppresses homologous recombination. **Sci. Rep.** 3, 2022. doi: 10.1038/srep02022
6. Kondo, T., Kobayashi, J., Saitoh, T., Maruyama, K., Ishiib, K., Barber, G. N., Komatsu, K., Akira, S. and *Kawai, T. (2013) The DNA damage sensor MRE11 recognizes cytosolic double-stranded DNA and induces type I interferon by regulating STING trafficking. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 110, 2969-74. doi: 10.1073/pnas.1222694110
7. Shimada, M., Hirayama, R. and *Komatsu, K. (2013) High LET radiation amplifies centrosome overduplication through a pathway of γ -tubulin monoubiquitination. **International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics** 86, 358-365. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.01.010

西山 正章 (20)

1. Moroishi, T., Yamauchi, T., Nishiyama, M. and *Nakayama, K.I. (2014) HERC2 Targets the Iron Regulator FBXL5 for Degradation and Modulates Iron Metabolism. **J. Biol. Chem.** In press. doi: 10.1074/jbc.M113.541490

- Hashimoto Y., Shirane M., Matsuzaki F., Saita S., Ohnishi T., *Nakayama, K.I. (2014) Protrudin regulates endoplasmic reticulum morphology and function associated with the pathogenesis of hereditary spastic paraplegia. **J. Biol. Chem.** 289, 12946-12961. doi: 10.1074/jbc.M113.528687
- Matsumoto A., Takeishi S., *Nakayama, K.I. (2014) p57 regulates T cell development and prevents lymphomagenesis by balancing p53 activity and pre-TCR signaling. **Blood** in press. doi: 10.1182/blood-2013-10-532390
- Ohnishi T., Shirane M., Hashimoto Y., Saita S., *Nakayama, K.I. (2013) Identification and characterization of a neuron-specific isoform of protrudin. **Genes Cells** 19, 97-111, doi: 10.1111/gtc.12109.
- Yumimoto K., Muneoka T., Tsuboi T., *Nakayama, K.I. (2013) Substrate binding promotes formation of the Skp1-Cul1-Fbx13 (SCF/Fbx13) complex. **J. Biol. Chem.** 288, 32766-32776, doi: 10.1074/jbc.M113.511303.
- Yumimoto K., Matsumoto M., Onoyama I., Imaizumi K., *Nakayama, K.I. (2013) F-box and WD repeat domain containing-7 (Fbxw7) targets endoplasmic reticulum-anchored osteogenic and chondrogenic transcriptional factors for degradation. **J. Biol. Chem.** 288, 28488-284502, doi: 10.1074/jbc.M113.465179.
- Hirano, A., Yumimoto, K., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Nakagawa, T., Lanjakornsiripan, D., *Nakayama, K.I. and *Fukada, Y. (2013) FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes). **Cell** 152, 1106-1118. doi: 0.1016/j.cell.2013.01.054.
- Takeishi S., Matsumoto A., Onoyama I., Naka K., Hirao A., *Nakayama, K.I. (2013) Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. **Cancer Cell** 23, 347-361. doi: 10.1016/j.ccr.2013.01.026.
- Saita S., Shirane M., *Nakayama, K.I. (2013) Selective escape of proteins from mitochondria during mitophagy. **Nature Commun.** 4, 1410. doi: 10.1038/ncomms2400.
- Tateishi Y., Matsumoto A., Kanie T., Hara E., Nakayama K., *Nakayama, K.I. (2012) Development of mice without Cip/Kip CDK inhibitors. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 427, 285-292. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.09.041.

藤木 幸夫 (7)

- Yamashita, S., Abe, K., Tatemichi, Y., and *Fujiki, Y. The membrane peroxin PEX3 induces peroxisome-ubiquitination-linked pexophagy. **Autophagy** In press.
- Okumoto, K., Noda, H., and *Fujiki, Y. (2014) Distinct modes of ubiquitination of peroxisome-targeting signal type 1 (PTS1)-receptor Pex5p regulate PTS1 protein import. **J. Biol. Chem.** 289, 14089-14108. doi: 10.1074/jbc.M113.527937
- *Fujiki, Y., Itoyama, A., Abe, Y., and Honsho, M. (2014) Molecular complex coordinating peroxisome morphogenesis in mammalian cells. In: Brocard, C. and Hartig, A. (eds) **Molecular machines involved in peroxisome biogenesis and maintenance** in press. Berlin, Springer-Verlag.
- *Fujiki, Y., Okumoto, K., Mukai, S., and Tamura, S. (2014) Molecular basis for peroxisome biogenesis disorders. In: Brocard, C. and Hartig, A. (eds) **Molecular machines involved in peroxisome biogenesis and maintenance** in press. Berlin, Springer-Verlag.
- Honsho, M., Asaoku, S., Fukumoto, K., and *Fujiki, Y. (2013) Topogenesis and homeostasis of fatty acyl-CoA reductase 1. **J. Biol. Chem.** 288, 34588-34598. doi: 10.1074/jbc.M113.498345
- Noguchi, M., Okumoto, K., and *Fujiki, Y. (2013) System to quantify the import of peroxisomal matrix proteins by fluorescence intensity. **Genes Cells** 18, 476-492. doi: 10.1111/gtc.12051
- Yagita, Y., Hiromasa, T., and *Fujiki, Y. (2013) Tail-anchored PEX26 targets peroxisomes via a PEX19-dependent and TRC40-independent class I pathway. **J. Cell Biol.** 200, 651-666. doi: 10.1083/jcb.201211077

松田 憲之 (5)

- Koyano, F., Okatsu, K., Kosako, H., Tamura, Y., Go, E., Kimura, M., Kimura, Y., Tsuchiya, H., Yoshihara, H., Hirokawa, T., Endo, T., Fon, E-A., Trempe, J-F., Saeki, Y., *Tanaka, K., and *Matsuda, N. (2014) Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate Parkin. **Nature** In press. DOI: 10.1038/nature13392
- Okatsu, K., Uno, M., Koyano, F., Go, E., Kimura, M., Oka, T., *Tanaka, K., and *Matsuda, N. (2013) A dyadic PINK1-containing complex on depolarized mitochondria stimulates Parkin recruitment. **J. Biol. Chem.** 288, 36372-36384. doi:10.1074/jbc.M113.509653
- Iguchi, M., Kujuro, Y., Okatsu, K., Koyano, F., Kosako, H., Kimura, M., Suzuki, N., Uchiyama, S., *Tanaka, K., and *Matsuda, N. (2013) Parkin catalyzed ubiquitin-ester transfer is triggered by PINK1-dependent phosphorylation. **J Biol Chem.** 288, 22019-32. doi: 10.1074/jbc.M113.467530.
- Koyano, F., Okatsu, K., Ishigaki, S., Fujioka, Y., Kimura, M., Sobue, G., *Tanaka, K., and *Matsuda, N. (2013) The principal PINK1 and Parkin cellular events triggered in response to dissipation of mitochondrial membrane potential occur in primary neurons. **Genes Cells** 18, 672-81. DOI: 10.1111/gtc.12066.

紺野 宏記 (1)

- Nojima, T., Konno, H., Kodera, N., Seio, K., Taguchi, H., and *Yoshida, M. (2012) Nano-scale alignment of proteins on a flexible DNA backbone. **PLoS One.** 7(12):e52534. doi: 10.1371/journal.pone.0052534

枋尾 豪人 (2)

- Walinda, E., Morimoto, D., Sugase, K., Konuma, T., Tochio, H., *Shirakawa, M. (2014) Solution Structure of the Ubiquitin-associated (UBA) Domain of Human Autophagy Receptor NBR1 and its Interaction with Ubiquitin and Polyubiquitin. **J. Biol. Chem.** 2014 Apr 1. [Epub ahead of print]
- Yamamoto, T., Tsutsumi, N., *Tochio, H., *Ohnishi, H., Kubota, K., Kato, Z., Shirakawa, M., Kondo, N. (2014) Functional assessment of the mutational effects of human IRAK4 and MyD88 genes. **Mol. Immunol.** 58, 66-76. doi: 10.1016/j.molimm.2013.11.008.

内藤 幹彦 (3)

- Kikuchi, R., Ohata, H., Ohoka, N., Kawabata, A., and Naito, M. (2014) APOLLON Protein Promotes Early Mitotic CYCLIN A Degradation Independent of the Spindle Assembly Checkpoint. **J. Biol. Chem.** 289, 3457-3467. Doi: 10.1074/jbc.M113.514430
- Okuhira, K., Demizu, Y., Hattori, T., Ohoka, N., Shibata, N., Nishimaki-Mogami, T., Okuda, H., Kurihara, M., and *Naito, M. (2013) Development of hybrid small molecules that induce degradation of estrogen receptor-alpha and necrotic cell death in breast cancer cells. **Cancer Sci.** 104, 1492-1498. Doi: 10.1111/cas.12272

2. 領域ホームページ

<http://ubiquitin.jp/>

3. シンポジウム・ワークショップ（計画研究代表者、分担者がオーガナイザーに加わったもののみ）

第 87 回日本生化学会大会 駒田（計画研究 02）松田（公募研究）2014 年 10 月 15～18 日

シンポジウム「ユビキチン・ワールド：分子の鎖が織りなす多彩な生命機能」

第 36 回日本分子生物学会年会 岩井（計画研究 01）佐伯（計画研究 07）2013 年 12 月 3～6 日

ワークショップ「ユビキチンコードの生物学」

第 86 回日本生化学会大会 畠山（計画研究 05）嘉村（計画研究 05）2013 年 9 月 11～13 日

シンポジウム「ユビキチンネオバイオロジー」

第 35 回内藤コンファレンス co-organizer 岩井（計画研究 01）畠山（計画研究 05）2013 年 7 月 9～12 日

「The Ubiquitin-Proteasome System: From Basic Mechanisms to Pathophysiological Roles」

第 65 回日本細胞生物学会大会 駒田（計画研究 02）2013 年 6 月 19～21 日

シンポジウム「タンパク質分解システムによる細胞制御」

4. 受賞

計画研究 07 佐伯 泰

平成 25 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞

研究課題：プロテアソームの動態と作動機構に関する研究

計画研究 05 畠山 鎮次

平成 25 年度日本リウマチ財団・三浦記念リウマチ学術研究賞

研究課題：リウマチ性疾患における免疫細胞活性化を制御するユビキチン化システムの解明

A01 公募研究 深田 吉孝

平成 26 年度 文部科学大臣表彰 科学技術賞

研究課題：体内時計の 24 時間リズムを形造る時計タンパク質制御の研究

5. アウトリーチ活動

計画研究 06 川原 裕之

1. 平成 24 年度日本学術振興会科学研究費補助事業「ひらめきときめきサイエンス」

首都大学東京 生命科学一日体験ラボ 平成 24 年 8 月 10 日 受講生：高校生 22 名

計画研究 08 水島 恒裕

1. 京都府立亀岡高等学校 スマート研修 平成 25 年 4 月 19 日 受講生：京都府立亀岡高等学校 生徒 33 名

2. 兵庫県立豊岡高等学校での大学模擬授業 平成 25 年 6 月 14 日 受講生：講義 I：16 名、講義 II：12 名

3. 兵庫県立川西名峰高校からの研究室訪問 平成 25 年 7 月 9 日 受講生：川西名峰高等学校 生徒 28 名

4. 兵庫県立姫路飾西高校からの研究室訪問 平成 25 年 7 月 30 日 受講生：姫路飾西高等学校 生徒 40 名

計画研究 01 岩井 一宏

1. Kyoto University Academic Days 平成 25 年 6 月 19 日 15 時 15 分～40 分 α -Station（FM 京都）で放送

計画研究 05 畠山 鎮次（北海道大学・大学院医学研究科）

1. JST「サイエンス・パートナーシップ・プログラム」平成 25 年 6 月 24 日 受講生：中学校 2 年生 128 名

計画研究 02 駒田 雅之（東京工業大学・大学院生命理工学研究科）

1. 平成 26 年度 東京工業大学 すずかけ祭・研究室公開 平成 26 年 5 月 17-18 日 受講生：約 100 名

公募研究 深田 吉孝（東京大学・大学院理学系研究科）

1. 平成 25 年度 東京大学 高校生のためのオープンキャンパス - 平成 25 年 8 月 8 日 受講生：高校生 180 名

公募研究 松田 憲之（東京都医学総合研究所）

1. 第 15 回 サイエンスカフェ in 上北沢 平成 26 年 3 月 16 日 受講生：一般の参加者 36 名

9. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

1. 研究領域の推進方策

本新学術領域研究は申請時に（2）異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。（3）多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの。（4）当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすものを研究対象とし、異なった専門領域と研究手法を有した研究者がユビキチンを中核に据えて密接に連携・融合研究を進めること、ユビキチン研究のインフラ整備を進めて基礎生物学のみならず、疾患研究、創薬研究などへ大きな波及効果をもたらすことを目指した。

ユビキチン研究のインフラ整備に関しては、

- a) 高感度質量分析計を導入し、世界トップレベルの高感度なポリユビキチン鎖の絶対定量法、ユビキチン鎖長決定法、ポリユビキチン基質の効率的同定法などを樹立した。
- b) 構造解析に関しても、これまでにユビキチン-プロテアソーム系に特化して構造解析に取り組んで来た水島を代表者とする計画研究班を設置して、ユビキチンに特化した構造研究の育成と共同研究を推進する。
- c) 研究情報交換窓口を設け、計画研究のメンバーを中心にこれまで、領域研究開始後に樹立したユビキチン解析ツール、プロトコール、受託研究を領域研究者に提供する。

の3点を施行し、着実に成果を挙げつつある。

a)、b)に関しては領域内を中心に領域外も含め利用、共同研究を一層充実する方針である。c)のユビキチン解析ツールに関しては現状より一層の充実を図り、利用しやすいシステムの構築に努めたい。研究情報交換窓口は領域に参加した研究者の同意を得て、領域終了後も維持して広く試料の提供を続けることで他の研究領域の発展にも寄与できると考えている。

また、公募研究で採択した紺野の有する時間分解能に優れた高速 AFM を新たなユビキチン解析技術として確立して、領域から世界に向けて発信したいと考えている。

ユビキチン修飾系の多様な役割はポリユビキチン鎖など多彩な修飾様式の存在による。ユビキチン鎖の種類によってタンパク質の制御様式が異なると考えられているので、本領域では多様なポリユビキチン鎖の試験管内合成系を樹立して領域に供することを目標の1つに設定した。計画研究、公募研究の K6 鎖、K27 鎖を計画研究 01 の岩井が公募研究の金と共同でバクテリアの E3 リガーゼを用いて樹立に努めている。K6 鎖に選択性の高い E2-E3 の組み合わせは見出しているが K6 鎖のみを作成する方法は樹立できていない。

高価ではあるが、それらのユビキチン鎖が購入可能になったこと、化学的な合成方法が報告されたこと等を鑑み、領域としてポリユビキチン鎖生成系の樹立には積極的には取り組まず、必要に応じて領域外から導入することに方針を転換したいと考えている。

ユビキチン研究を進める上での疑問等を気軽に相談できる窓口をホームページに設置して、研究情報交換窓口では提供しない領域外、海外の研究者が持つユビキチン研究ツール、研究手法に関しての情報も可能な限り提供し、研究の推進に努めたいと考えている。

異なった専門領域、研究手法を有した研究者間の密接な連携・融合研究に関しては、

項目 2 に示したように、すでに 24 件に及ぶ共同研究が進行中であることから、申請時の計画に沿って順調に連携・融合研究が進展しつつあると考えており、成果として発信していく所存である。

前述の様に、平成 25 年度に加わった公募研究、計画研究ではヒト、動物、植物、微生物、神経、癌、免疫など生物界の多岐に亘る生命現象の研究が進展している点が本新学術領域の大きな特徴である。その利点を活かし、ユビキチン領域のみならず、広く生命科学の分野で我が国を背負う人材の育成にも尽力したいと考えており、領域全体会議等で若手発表、若手と計画研究、公募研究代表者らとの交流の場を積極的に設営したいと考えている。とりわけ若手育成に関しては本年度に開催する若手ワークショップを領域で主催する国際会議と同時期に開催し、海外からの招聘研究者に若手ワークショップのディスカッサントとして加わって頂く内諾を得ている。

また、今後のユビキチン研究の発展のためには、世界のユビキチン研究の趨勢に直接触れることが非常に重要である。

平成 26 年度に領域が国際シンポジウムを主催するが、それだけでは世界の趨勢に触れることは不可能であり、ホームページを通じて世界で開催されるユビキチン関連国際会議の開催情報や、参加した国際会議で得られた情報などを可能な限り提供して、領域研究者の国際化にも尽力し、日本を代表する次世代のユビキチン研究者の育成にも努めていく所存である。