

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24112001

研究課題名(和文)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

研究課題名(英文)New aspect of the ubiquitin system : its enormous roles in protein regulation

研究代表者

岩井 一宏 (Iwai, Kazuhiro)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：60252459

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,900,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質性の翻訳後修飾因子であるユビキチンは、タンパク質分解と関連して研究が発展してきた。しかし、ユビキチン修飾系は、分解以外にも多様な様式でタンパク質を調節して広汎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った。ユビキチン研究に必要な研究手法は多様化、高度化し、1つの研究室で対応するのは不可能である。新学術領域【ユビキチン制御】では、今後のユビキチン研究の発展に不可欠である最先端の解析技術の開発と、ユビキチンによる新たな生命機能制御メカニズムの解析を推進した。本研究は総括班として、広報、若手支援、国際化、領域内共同研究などを担当し、領域研究の推進に貢献した。

研究成果の概要(英文)：Ubiquitin, a proteinous post-translational modifier, has been studied as a part of protein degradation system. However, it is now widely recognized that the ubiquitin system is involved in the regulation of a wide variety of biological phenomena by modulating protein functions in many ways. Since dissection methods of the ubiquitin system become diversified and highly developed, it is almost impossible to do all the dissections in one laboratory. "New aspect of the ubiquitin system : its enormous roles in protein regulation", an research area of Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas was organized to develop cutting-edge technologies to dissect the ubiquitin system and tried to identify new roles of the ubiquitin system in the regulation of biological phenomena. This research project is a headquarter of the research area and handled advertisement, organizing conference for young as well as foreign researchers and promoting collaborations within research areas.

研究分野：生体分子医学

キーワード：領域内研究者交流 情報交換 若手支援 国際化推進

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質性の翻訳後修飾因子であるユビキチンは、発見された経緯からタンパク質分解と関連して研究が発展してきた。しかしながら、近年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広汎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る。ユビキチンは「ユビキチンコード」と定義できるほど多様な様式で標的タンパク質に付加されてそれらの機能を制御しており、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ている。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。

上記を踏まえ、新学術領域【ユビキチン制御】では、今後の我が国のユビキチン研究の発展に不可欠である最先端の解析技術の開発と、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推進している。

2. 研究の目的

本研究課題は新学術領域研究「ユビキチン制御」の研究が円滑に推進することを目指し、領域の計画研究の研究代表者と分担研究者が本研究課題に分担研究者あるいは連携研究者として加わり役割を分担して領域を運営している。

3. 研究の方法

新学術領域【ユビキチン制御】では分解のみならず多彩な様式でタンパク質を制御することで、広範な生命現象の制御系として機能している。本研究課題は新学術領域研究「ユビキチン制御」の円滑な運営を目指す研究課題なので、以下の3項目を運営の基本方針とした。

- ア. 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、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。
- イ. ユビキチンの関与に着目して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。
- ウ. 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。

上記を実践するために、領域参加者が一体となることが不可欠と考え、この領域の計画研究の研究代表者と分担研究者が本研究課題に分担研究者あるいは連携研究者として加わり、以下の3点から領域を運営した。

1. 計画研究代表者、分担研究者の役割分担の明確化と連携の促進

a. 領域全体会議、b. 研究情報交換窓口、c. 国際交流、d. 広報活動の4項目を研究代表者、研究分担者、連携研究者が分担して担当し、領域内研究者の連携、研究の推進を図る。

2. 多様な生命科学分野の研究者の参画

ユビキチンが関与する生命現象は非常に多岐にわたるので、計画研究だけではその広汎な役割の全てを網羅することは困難である。そこで、公募研究でユビキチンが関与する多彩な生命現象の研究者を積極的に採択する。本領域には多彩な生命現象の研究者が参画するので、領域全体会議などで生命科学全般に触れることのできる環境を提供する。

3. 将来の我が国を担う若手研究者の育成

本領域で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。これらの研究者は次世代の研究者の目指すべき身近なロールモデルとなる。そこで、これらの研究者を総括班の若手支援担当に抜擢し、若手支援施策を実施する。また、若手研究者による領域内融合研究プロジェクトを募集し、次代を担う若手研究者の育成、発掘に努める。

4. 研究成果

1. 計画研究代表者、分担研究者の役割分担の明確化と連携の促進

a. 領域全体会議は計画研究班員の持ち回り、
b. 研究情報交換窓口は本研究の分担研究者の嘉村(名古屋大学)が、c. 国際交流は研究代表者、d. 広報活動は分担研究者の駒田(東京工大)、連携研究者の川原(首都大学東京)が中心となって、領域の円滑な運営を目指した。その結果、以下のような成果が達成された。

ア) 領域内共同研究の推進

ユビキチン研究の進展の結果、1つの研究室だけで全ての解析技法をまかなうことは不可能である。そこで、領域内共同研究の積極的な推進を図った。具体的には、公募研究が採択された平成25、27年度に可及的に早く第1回領域全体会議を開催し、公募研究の研究内容を領域内で共有すると共に、領域内研究者同士の良好な関係の構築を進めた。その効果もあり、計77件もの領域内共同研究が行われた。

イ) 研究資料の領域内共有

ユビキチン研究は試験管内ユビキチン化反応などユビキチンに特化した研究手法が数多くあり、特有の研究試料が数多い。本領域内のユビキチン研究のより一層の推進を目指して領域に参画するユビキチン研究者が蓄積してきた研究試料、および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る目的で、研究情報交換窓口を設けた。そのために、総括班

の経費で設置した領域ホームページ内に領域研究者が有するユビキチン解析試料・手法等を収集して共同利用できる様に掲載した。

領域研究期間中に総計 385 件、その内訳は、研究試料 368 件(DNA277 件、抗体 27 件、タンパク質・バキュロウイルス 35 件)そして変異株・遺伝子改変生物 29 件)、実験プロトコール 14 件、受託解析 3 件、が同窓口に登録され領域研究者間で共有された。提供者の承諾を得た試料は、領域終了後は日本の研究コミュニティ全体に公開する予定である。

ウ) ニュースレターの発行

計画研究、公募研究の研究内容の紹介にくわえ、ユビキチン研究のトピックなどを領域内で共有するために、ニュースレターを発行している。また、若手の道標になればと考え、計画研究や公募研究の年配の研究者に若かった頃をふり返ってもらった文章を書いていただいた。ニュースレター領域外からも若手への刺激になったとのコメントも戴いた。

エ) ユビキチンフォーラムの設置

ユビキチンが関与する論文の情報交換の場として総括班の予算でユビキチンフォーラムを開設し、ユビキチンに関する論文をいち早く紹介、情報交換できるようにした。

オ) 国際化の推進

平成 26 年に第 1 回 (1st International Symposium for New Aspects of the Ubiquitin Research)、平成 28 年にはユビキチン依存性タンパク質分解系の発見でノーベル賞を受賞された Ciechanover 教授を含む数名の外国人研究者を招へいた第 2 回国際シンポジウム (Diverse functions of Ubiquitin : Degradation, Signaling, and Beyond)を開催した。また、平成 27 年にも韓国のユビキチンの代表的研究者、若手研究者を招聘して国際シンポジウムを開催する予定であったが、韓国での MARS の発症のため開催が叶わなかったのは残念であった。

2. 多様な生命科学分野の研究者の参画

初年度の平成 24 年度には公募研究の募集期間中の 9 月 26 日にキックオフシンポジウムを開催し、約 140 名の参加者があった。同シンポジウムでは世界最先端のユビキチン解析技法を整備して公募、計画の区別なく領域研究者に解放する、植物、微生物なども含め、広くユビキチンに関する研究を展開している研究者の参画を歓迎するなどの運営方針を紹介した。約 140 名の参加者があり、その結果、数多くの優れた公募研究が参画した。

3. 将来の我が国を担う若手研究者の育成

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、ユビキチン修飾系の関与する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った。本領域のもう一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た点である。そこで、若手計画研究代表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の施策を実施した。

加えて、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、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て開催した国際ワークショップの際に若手ワークショップを同時開催した。同若手ワークショップでは参加若手研究者は英語での口頭発表、ポスター発表を行い、招へい外国人研究者が座長となって積極的にディスカッションしたのに加え、Meet the professor セッションを設け、招へい研究者と若手研究者がサイエンス、研究者としてキャリアデザインなどを少人数で討議した。

その成果もあり、本領域研究からは多くの若手研究者が巣立っている。公募研究の代表者 1 名が大阪大学・高等共創研究院教授に就任し、2 名の計画研究参画者が独立准教授として研究室を主宰している。また、計画研究代表 07 の佐伯 泰(公益財団法人東京都医学総合研究所 主席研究員 同 副参事研究員)を含め、5 名の若手研究者が昇任したに加え、公募研究代表者 1 名が准教授に就任し、研究協力者として参加した若手研究者のうち 15 名が助教に就任している。加えて 5 名が海外(アメリカ 3、イギリス 1、イタリア 1)でポスドク研究員として研究に従事し、内 1 名は帰国後助教に就任するなど、多くの若手が研究者として巣立っている。

これらの取り組みが奏功し、活発な領域内共同研究が数多く展開し、ユビキチンのリン酸化、アセチル化などをはじめとして世界をリードするユビキチン研究が数多く発信できた。

5 . 主な発表論文等

- 〔雑誌論文〕(計 18 件) 10. 以外査読有り
1. Okamura, K., Kitamura, A., Sasaki, Y., Chung, D.H., Kagami, S., Iwai, K., and *Yasutomo, K. (2016) Survival of mature T cells depends on signaling through HOIP. **Sci. Rep.** 6, 36135. doi: 10.1038/srep36135
 2. Nakazawa, S., Oikawa, D., Ishii, R., Ayaki, T., Takahashi, H., Takeda, H., Ishitani, R., Kamei, K., Takeyoshi, I., Kawakami, H., Iwai, K., Hatada, I., Sawasaki, T., Ito, H., Nureki, O., and Tokunaga, F. (2016) Linear ubiquitination is involved in the pathogenesis of optineurin-associated amyotrophic lateral sclerosis. **Nat Commun.** 24, 7:12547. doi: 10.1038/ncomms12547
 3. Shimizu, S., Fujita, H., Sasaki, Y., Tsuruyama, T., Fukuda, K., and Iwai, K. (2016) Differential involvement of the NZF domains of SHARPIN and HOIL-1L in LUBAC-mediated cell death protection. **Mol. Cell. Biol.** 36, 1569-1583. doi:10.1128/MCB.01049-15
 4. Bowman, J., Rodgers, M.A., Shi, M., Amatya, R., Hostager, B., Iwai, K., Gao, S.J., and Jung, J.U. (2015) Posttranslational Modification of HOIP Blocks Toll-Like Receptor 4-Mediated Linear-Ubiquitin-Chain Formation. **MBio.** 6, pii: e01777-15, 2015. doi: 10.1128/mBio.01777-15

5. Kumanomidou, T., Nishio, K., Takagi, K., Nakagawa, T., Suzuki, A., Yamane, T., Tokunaga, F., Iwai, K., Murakami, A., Yoshida, Y., Tanaka, K., and Mizushima, T. (2015) The Structural differences between a glycoprotein specific F-Box protein Fbs1 and its homologous protein FBG3. *PLoS One* 10, e0140366 doi: 10.1371/journal.pone.0140366.
 6. Matsunaga, Y., Nakatsu, Y., Fukushima, T., Okubo, H., Iwashita, M., Sakoda, H., Fujishiro, M., Yamamotoya, T., Kushiya, A., Takahashi, S., Tsuchiya, Y., Kamata, H., Tokunaga, F., Iwai, K., and Asano, T. LUBAC Formation Is Impaired in the Livers of Mice with MCD-Dependent Nonalcoholic Steatohepatitis. *Mediators Inflamm.* 2015:125380, 2015. doi: 10.1155/2015/125380.
 7. Sasaki, K. and Iwai, K. Roles of linear ubiquitinylation, a crucial regulator of NF- κ B and cell death, in the immune system. (2015) *Immunol. Rev.* 266, 175-189, 2015. doi: 10.1111/imr.12308.
 8. Morimoto, D., Walinda, E., Fukada, H., Sou, Y. S., Kageyama, S., Hoshino, M., Fujii, T., Tsuchiya, H., Saeki, Y., Arita, K., Ariyoshi, M., Tochio, H., Iwai, K., Namba, K., Komatsu, M., Tanaka, K., Shirakawa, M. The unexpected role of polyubiquitin chains in the formation of fibrillar aggregates. (2015) *Nat. Commun.* 6, 6116. doi: 10.1038/ncomms7116
 9. Sakamoto, H., Egashira, S., Saito, N., Kirisako, T., Miller, S., Sasaki, Y., Matsumoto, T., Shimonishi, M., Komatsu, T., Terai, T., Ueno, T., Hanaoka, K., Kojima, H., Okabe, T., Wakatsuki, S., Iwai, K. (corresponding author), and Nagano, T. (2015) Gliotoxin suppresses NF- κ B activation by selectively inhibiting linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC). *ACS Chem. Biol.* 10, 675-681. doi: 10.1021/cb500653y.
 10. Iwai, K. and Tanaka, K. (2014) Ubiquitin chain elongation: An intriguing strategy. *Molecular Cell* 56, 189-191. doi: 10.1016/j.molcel.2014.10.009.
 11. Queisser, M. A., Dada, L. A., Deiss-Yehiely, N., Angulo, M., Zhou, G., Kouri, F. M., Knab, L. M., Liu, J., Stegh, A. H., DeCamp, M. M., Budinger, G. R., Chandel, N. S., Ciechanover, A., Iwai, K., and *Sznajder, J. I. (2014) HOIL-1L Functions as the PKC ζ Ubiquitin Ligase to Promote Lung Tumor Growth. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 190, 688-698. doi: 10.1164/rccm.201403-0463OC.
 12. Iwai, K., Fujita, H., and Sasaki, Y. (2014) Linear ubiquitin chains: NF- κ B signalling, cell death, and beyond. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 15, 503-508. doi: 10.1038/nrm3836.
 13. Rodgers, M. A., Bowman, J., Fujita, H., Orazio, N., Shi, M., Liang, Q., Amatya, 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.* 211, 1333-1347. doi: 10.1084/jem.20132486.
 14. 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.
 15. 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., Braziel, 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
 16. 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
 17. 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
 18. 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.
- 〔学会発表〕（計 13 件）
1. Shimizu, S., Fujita, H., Sasaki, Y., and Iwai, K. Differential involvement of subunits of LUBAC ubiquitin ligase in signalling and cell death. EMBO Conference “Ubiquitin and ubiquitin-like modifiers: From molecular mechanisms to human diseases” HOTEL CROATIA CAVTAT, September 18-22, 2015, Cavtat, Croatia (Oral presentation).
 2. Iwai, K. Linear ubiquitin chains: NF- κ B activation, cell death, and cancer. International Symposium on Ubiquitin and Diseases. June 14-19, 2015, Dacheng Hotel, Zhangjiajie, China (Invited).
 3. Iwai, K. Linear ubiquitin chains: a new regulator of NF- κ B activation and cell death signaling. 1st SPS International Symposium

- Xiamen University, June 13, 2015, Xiamen, China (Invited).
4. Sakamoto, H., Egashira, S., Okabe, T., Nagano, T., and Iwai, K. Inhibition of LUBAC-mediated linear ubiquitination by a virulence factor of *Aspergillus*, gliotoxin. Cold Spring Harbor Laboratory meeting “The Ubiquitin Family”, April, 21-25, 2015, Cold Spring Harbor, NY, USA (Oral presentation).
 5. Iwai, K. Phenotypical difference between mice lacking subunits of LUBAC ubiquitin ligase. 1st International Symposium for New Aspects of the Ubiquitin Research November 10, 2014 Kyoto, Japan (invited).
 6. Tamiya, H. and Iwai, K. Induction of expression of linear ubiquitin chain generating LUBAC ligase and amelioration of dermatitis in cpdm mice by interferons. The EMBO conference “Ubiquitin & ubiquitin-like proteins: At the crossroads from chromatin to protein” October 19-24, 2014 Buenos Aires, Argentina (Oral presentation).
 7. Iwai, K. Linear ubiquitination : a new regulator of NF- κ B and cell death signaling. 2014 International Conference on Protein Metabolism & Diseases July 9-11, 2014 Yangyang, Korea (invited).
 8. Iwai, K. Mechanism underlying linear ubiquitin-mediated NF- κ B activation. Benzon Symposium Nuclear regulation by ubiquitin August 18-21, 2014 Copenhagen, Denmark (Oral presentation).
 9. Fujita, H., Takiuchi, T., and Iwai, K. Molecular mechanism and regulation of linear chain-mediated NF- κ B activation. Cold Spring Harbor Asia Conference “Protein Modifications & Homeostasis” June 16-20, 2014, Suzhou, China (Invited).
 10. Iwai, K. Linear Polyubiquitination: a Crucial Regulator of NF- κ B Activation. THE UEHARA MEMORIAL FOUNDATION SYMPOSIUM 2014, Innovative Medicine : Basic Research and Development. June 14-17, 2014, Tokyo, Japan (Invited).
 11. Sasaki, Y., Fujita, H., and Iwai, K. Differential requirement of LUBAC-mediated linear polyubiquitination in CD40- or BCR-mediated canonical NF- κ B activation in B cells. The EMBO Conference “Ubiquitin and Ubiquitin-like Proteins: From structure to function” October 1-5, 2013 Riva del Garda, Italy.
 12. Iwai, K. Linear polyubiquitination: a new regulator of NF- κ B activation. The 35th Naito Conference “The Ubiquitin-Proteasome System: From Basic Mechanisms to Pathophysiological Roles” July 9-12, 2013 Sapporo, Japan (Invited)
 13. Iwai, K. Linear polyubiquitination: a new regulator of NF- κ B activation. The 38th

FEBS congress symposium “Regulation of biological processes by ubiquitin and ubiquitin-like proteins in health and disease: proteolysis, autophagy and apoptosis” July 7, 2013, St. Petersburg, Russia (Invited)

なし

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

新学術領域ホームページ：
<http://ubiquitin.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩井 一宏 (Iwai, Kazuhiro)
 京都大学・大学院医学研究科・教授
 研究者番号： 60252459

(2) 研究分担者

嘉村 巧 (Kamura, Takumi)
 名古屋大学・大学院理学研究科・教授
 研究者番号： 40333455

駒田 雅之 (Komada, Masayuki)
 東京工業大学・科学技術創成研究院・教授
 研究者番号： 10225568

佐伯 泰 (Saeki, Yasushi)
 東京都医学総合研究所・蛋白質代謝研究室・副参事研究員
 研究者番号： 80462779

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

()