

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03993

研究課題名（和文）プロテアソームを中心とした分解ネットワークの解明

研究課題名（英文）Elucidation of protein networks controlling proteasomal degradation

研究代表者

佐伯 泰（SAEKI, Yasushi）

公益財団法人東京都医学総合研究所・基礎医科学研究分野・プロジェクトリーダー

研究者番号：80462779

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,900,000円

研究成果の概要（和文）：細胞内の主要なタンパク質分解経路であるユビキチン・プロテアソーム系について、プロテアソームを中心とした分子ネットワークを解明し、ストレスや細胞分化による変動を解析することで、プロテアソーム分解を駆動する分子機構の詳細に迫った。1) プロテアソーム基質はp97-UFD1-NPL4複合体とRAD23Bにより選別され、プロテアソームに運搬されること、2) ストレス下において、プロテアソームはユビキチン化基質と共に液-液相分離し分解のための細胞内液滴を形成すること、3) ES細胞の神経細胞への分化に伴いプロテアソーム結合分子ECPASの発現が増加すること、細胞分化に必要なことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、高浸透圧ストレス下において、プロテアソームが分解のための細胞内液滴を形成すること、ユビキチン鎖とシャトル分子のマルチバレント相互作用が液-液相分離を駆動することを明らかにした（Nature 2020）。この研究成果はタンパク質分解の新たな様式であり、ライフサイエンス研究全般に大きなインパクトを与えた。また、ユビキチン依存的な液-液相分離の異常が、神経変性疾患で観察されるユビキチン陽性タンパク質封入体の形成に関与する可能性があり、神経変性疾患発症機構の理解につながる。また、プロテアソーム経路の分子機構の理解は、現在、爆発的に拡大しているユビキチン創薬の分子基盤となる研究である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we unraveled the molecular mechanisms driving proteasomal degradation in detail by investigating the molecular network centered on the proteasome and analyzing its changes to certain stressed conditions and cell differentiation. The major findings are as follows: 1) The ubiquitin-selective unfoldase p97-UFD1-NPL4 complex and the shuttle factor RAD23B are critically important for the selection of proteasomal substrates. 2) Under hyperosmotic stress, the proteasomes and ubiquitylated substrates undergo a liquid-liquid phase separation and form proteolytic droplets. 3) Expression level of ECPAS, a proteasome-binding molecule, increases during ES cell differentiation into neurons and is required for cell differentiation.

研究分野：生化学

キーワード：プロテアソーム ユビキチン タンパク質分解 質量分析 細胞分化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

プロテアソームはユビキチン化されたタンパク質を選択的に分解することで、様々な細胞機能を制御するとともにタンパク質恒常性の維持に中心的な役割を果たしている。従来、プロテアソームによるタンパク質分解はユビキチン化反応が律速であり、プロテアソーム基質はユビキチン化されれば一義的にプロテアソームで分解されると考えられてきた。しかし、研究代表者らは、出芽酵母のユビキチン結合分子およびプロテアソームのユビキチン鎖選択性を網羅的に解析したところ、ユビキチン選択的 ATPase 複合体 p97-UFD1-NPL4 およびシャトル分子 RAD23、DSK2 (酵母の UBQLN) がプロテアソームのユビキチン鎖 (K48 鎖) 選択性に大きく寄与すること、この間接的な基質ターゲティング経路がプロテアソーム分解の約 90% を占めることを明らかにした (Tsuchiya et al, Mol Cell 2017)。つまり、p97 やシャトル分子を介したプロテアソーム分解経路が本流であり、これらの分子はプロテアソーム経路のユビキチンデコーダー (暗号解読) であるという事実が浮かび上がってきた。一方、ヒトではシャトル分子が遺伝子重複により多様化していること、酵母には存在しないプロテアソーム結合タンパク質も多数存在すること、ES 細胞の全能性維持にプロテアソーム活性が重要であること、シャトル分子やコファクター (UBQLN ファミリー、p97、UBE3C など) の遺伝子変異が神経変性疾患などと関連することが相次いで報告され、プロテアソーム依存的なタンパク質分解を制御する詳細な分子機構の解明が必要となっている。

### 2. 研究の目的

哺乳動物プロテアソームのユビキチンデコーダー分子群およびアクセサリー分子群について、機能連携や使い分け、階層性を解析することで「プロテアソームを中心としたタンパク質分解の分子ネットワーク」を解明する。また「種々のストレスや細胞分化に伴うプロテアソーム分解ネットワークの変動」を解析することでプロテアソームによるタンパク質分解を統合的に理解する。

### 3. 研究の方法

- (1) 質量分析解析より同定したプロテアソーム結合タンパク質に 3xFLAG タグを付加し、インタラクトーム解析、ユビキチン化プロテオーム解析を実施することで、各ユビキチンデコーダーのプロテアソーム基質選択性を明らかにする。一方、各プロテアソーム結合タンパク質の siRNA ノックダウンあるいはノックアウトした細胞を用いて、高深度比較プロテオーム解析を実施し、基質タンパク質の量的変動を解析することで、アクセサリー分子群の機能を明らかにする。
- (2) 種々のストレス刺激によりプロテアソームが顆粒を形成することを見出しているため、その性状や顆粒に局在化する分子群、基質タンパク質を決定する。
- (3) ES 細胞の神経細胞への分化に伴い変動するプロテアソーム制御分子を探索し、細胞分化への影響を解析する。

### 4. 研究成果

- (1) プロテアソーム経路の分子ネットワークの解析  
3xFLAG タグを融合したシャトル分子 RAD23A、RAD23B、UBQLN1、UBQLN2、UBQLN4、DDI2 およびプロテアソームの安定発現細胞を作製し、質量分析を用いたインタラクトーム解析を実施した (図 1A)。その結果、通常培養条件下では、RAD23A と RAD23B がプロテアソームおよびユビキチン化タンパク質の両者に最も強く結合すること、即ち、RAD23A と RAD23B がプライマリのシャトル分子であることがわかった (図 1B)。一方、質量分析を用いたユビキチン鎖の絶対定量解析 (Ub-AQUA/PRM 法) を行ったところ、全てのシャトル分子は K48 連結型ユビキチン鎖に高い選択性をもち (>80%)、一部、K29 連結型ユビキチン鎖や K63 連結型ユビキチン鎖を含むことが明らかとなった。また、シャトル分子とプロテアソームとの相互作用はプロテアソーム阻害剤や p97 阻害剤処理により増強したが、E1 阻害剤で処理した場合は減弱したため、各シャトル分子はユビキチン化基質を認識し、p97 と協調してプロテアソーム分解を誘導することが明確となった。次に、短時間のプロテアソーム阻害剤処理および低ホルマリン処理をした細胞から各シャトル分子とプロテアソームを免疫沈降し、細胞内で相互作用しているユビキチン化タンパク質のプロテオーム解析を実施した。その結果、計 9,342 種類のユビキチン化ペプチド、計 2,320 種類のユビキチン化タンパク質を同定することに成功した (図 1C)。興味深いことに、RAD23A/B、DDI2 と UBQLN ファミリーとでは基質プロファイルが大きく異なり、主成分解析 (principal component analysis: PCA) においても異なるクラスターを形成することがわかった (図 1D)。Gene ontology 解析の結果、RAD23A/B 特異的なユビキチン化基質として転写因子 (MYC や HIF1A など) を含む可溶性タンパク質基質が、UBQLN ファミリー特異的なユビキチン化基質として膜貫通ドメインをもつ膜タンパク質がエンリッチすることが明らかとなった。つまり、RAD23A/B は広汎な可溶性基質に選択性をもち、プロテアソームの直接の基質タンパク質の多くとオーバーラップしたことから、RAD23A/B はプロテアソーム経路の中心的な制御分

子であることが明確となった。一方、UBQLN ファミリーは小胞体やミトコンドリアなどへのオルガネラへの局在化に失敗した不良新生膜タンパク質の分解に寄与することが、他の研究グループから報告があり (Itakura et al, Mol Cell 2016; Suzuki and Kawahara, EMBO Rep 2016)、本研究によるプロテオームワイドな解析がそれを裏付ける結果となった。

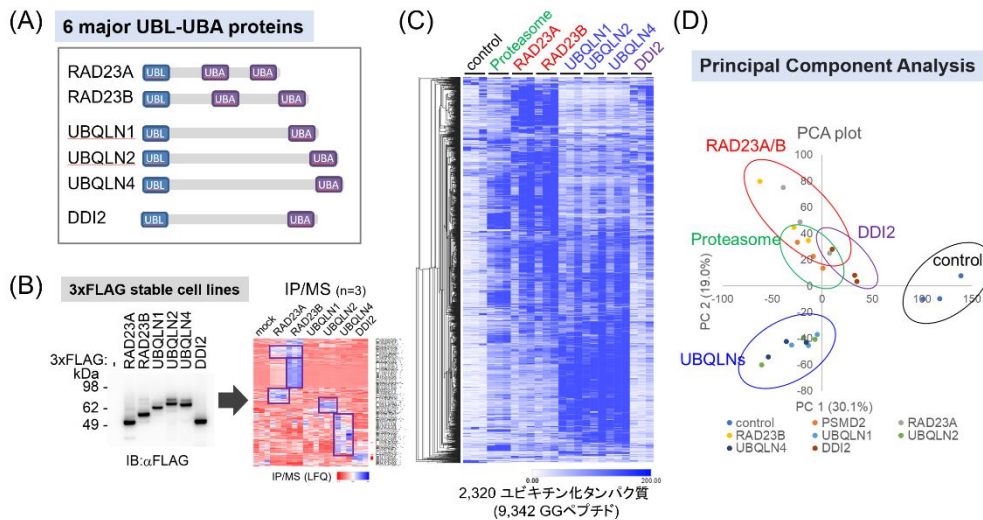


図1. プロテアソーム経路の分子ネットワーク解析

一方、プロテアソームのアクセサリ分子として同定していたユビキチンリガーゼ UBE3A について、過剰発現や siRNA によるノックダウンにより変動する基質タンパク質を高深度比較プロテオーム解析 (TMT-16plex/FAIMS 法) とユビキチン化プロテオーム解析により探索したが、明確に変動するユビキチン化基質は同定されなかった。後述のように、UBE3A はストレス下のプロテアソーム液滴形成を正に制御することから、タンパク質の品質管理機構に含まれる可能性が高い。また、プロテアソーム相互作用分子として、ユビキチン結合能を有する ZFAND タンパク質を同定した。7 種類の ZFAND ファミリーのうち、ZFAND2A, 2B, 3, 4, 5, 6 の 6 種類が細胞内でユビキチン化基質とプロテアソームの両方に結合すること、それぞれ異なる基質選択性を有することを見出しており、新たなシャトル分子ファミリーとして今後も詳細な解析を実施する。

## (2) ストレスとユビキチン化依存性なプロテアソームの液 - 液相分離

プロテアソームの生細胞イメージングの過程で、高浸透圧ストレス刺激によりプロテアソームが核内顆粒を形成することを見出した (図 2A)。このプロテアソーム顆粒は球状であり、ユビキチン化基質を含有すること、高浸透圧刺激後 3 時間ほどで消失するが、プロテアソーム阻害剤処理により安定化することを見出していた。本研究において、このプロテアソーム顆粒の性状を詳細に解析したところ、プロテアソーム顆粒が融合して肥大化すること、FRAP 解析により高い流動性をもつことが明らかとなり、液 - 液相分離により生じる新たな細胞内液滴であることが示唆された (図 2B)。クライオ電子線トモグラフィー (クライオ ET) 解析の結果、通常培養条件下において核質に分散して存在するプロテアソームが、高浸透圧ストレス刺激により集積すること、さらに、プロテアソーム集積体には足場となるような高密度凝集体が存在しなかったことから、本プロテアソーム顆粒は液滴様構造体であることが明らかとなった (図 2C)。次いで、低ホルマリン架橋下においてプロテアソームの相互作用分子を探索したところ、シャトル分子 RAD23B、ユビキチン選択的 ATPase の p97、ユビキチンリガーゼ UBE3A が液滴の構成因子として同定された。そこで、p97 については特異的阻害剤 NMS-873、RAD23B と UBE3A については siRNA ノックダウンにより、液滴形成に対する影響を解析したところ、p97 阻害剤処理により液滴が肥大化すること、RAD23B の発現抑制では液滴が全く生じないこと、UBE3A の発現抑制では液滴のサイズが減少することが明らかとなった。つまり、RAD23B と UBE3A は液滴形成を正に制御し、p97 は液滴のクリアランスに関与することがわかった。興味深いことに、RAD23B のノックダウン細胞あるいはノックアウト細胞では、プロテアソームだけではなくユビキチン化基質の集積もみられなかった。そこで、試験管内において RAD23B とポリユビキチン鎖の相分離を検証したところ、RAD23B の 2 つのユビキチン結合 (UBA) ドメインと 4-mer 以上の K48 連結型ポリユビキチン鎖がマルチバレント相互作用により液 - 液相分離を誘導することを見出した。よって、まずシャトル分子である RAD23B がストレスにより生じたユビキチン化基質と共相分離し、プロテアソーム結合能を有するユビキチン様 (UBL) ドメインを介してプロテアソームが集積し、プロテアソーム液滴が形成することが示唆された (図 2D)。また、液滴に集積した p97 や UBE3A はプロテアソームと連携してユビキチン化基質を分解すると考えられる。次に、ユビキチン化プロテオーム解析により、高浸透圧ストレス下で増加するユビキチン化基質を探索したところ、リボソームタンパク質やリンカーヒストンが同定された。電子顕微鏡解析から、核小体の内部構造が破壊されること、次いで、リボソーム RNA の転写が抑制されることが明

かとなり、リボソーム生合成の破綻(核小体ストレス)により核質に蓄積したリボソームのオーファンタンパク質が本プロテアソーム液滴の主要な分解基質であることが明らかとなった。RAD23B ノックアウト細胞は高浸透圧ストレスに脆弱であったため、高浸透圧ストレスにより生じた有害なタンパク質を迅速に分解するために、細胞は液-液相分離を利用していることが示唆された (Yasuda et al, Nature 2020)。

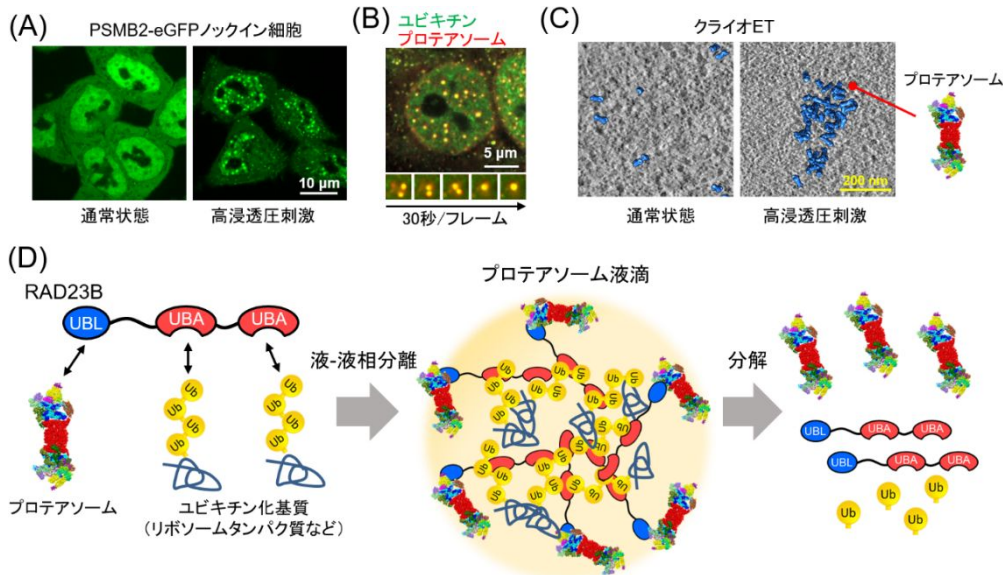


図2. ユビキチン依存的なプロテアソームの液-液相分離の発見

一方、細胞内 ATP レベルの低下やアミノ酸枯渇によっても、同様のプロテアソーム液滴様構造体が形成することを見出し、いずれも RAD23B と p97 が関与することを明らかにしている (未発表)。よって、プロテアソーム経路の主軸として RAD23B と p97 が機能することが明確となった。

### (3) 細胞分化に伴うプロテアソーム分子ネットワーク変動

マウス ES 細胞から神経幹細胞への分化に伴い変動するプロテアソーム結合タンパク質を質量分析により探索した。その結果、ECPAS、UBQLN1 が細胞分化に伴い増加すること、UBE3C、PSME4、UCHL5 が分化に伴い減少することを見出した (図 3A)。次に、レシオメトリック蛍光センサー (mCherry-P2A-eGFPdegron) を発現する ES 細胞を作成し、これらの分子の機能を解析したところ、ECPAS のノックダウン時にプロテアソーム活性が低下することが明らかとなった。次いで、Dox inducible な ECPAS shRNA 発現カセットを ES 細胞の ROSA26 領域に導入した細胞株を樹立した (図 3B)。これを胚葉体へと 3 日間分化させ、さらに分化誘導培地に移して 4 日間分化させることで神経幹細胞を誘導した。後半の 4 日間、あるいは 7 日間すべて Dox 処理して ECPAS をノックダウンし、分化終了後に qPCR により神経幹細胞マーカーである Nestin の発現レベルを解析した。その結果、未処理→Dox 4 日間→Dox 7 日間の順に Nestin が減少し、分化が妨げられていた (図 3C)。よって、分化に伴うプロテアソーム中の ECPAS の増加が、神経幹細胞への分化を促進する方向に働いている可能性が示唆された。本研究により、機能未知であった ECPAS がプロテアソーム活性を正に制御すること、細胞分化に伴うプロテアソーム機能への影響が示唆されたことから、今後、高深度プロテオーム変動解析等により詳細な機能を解析する。

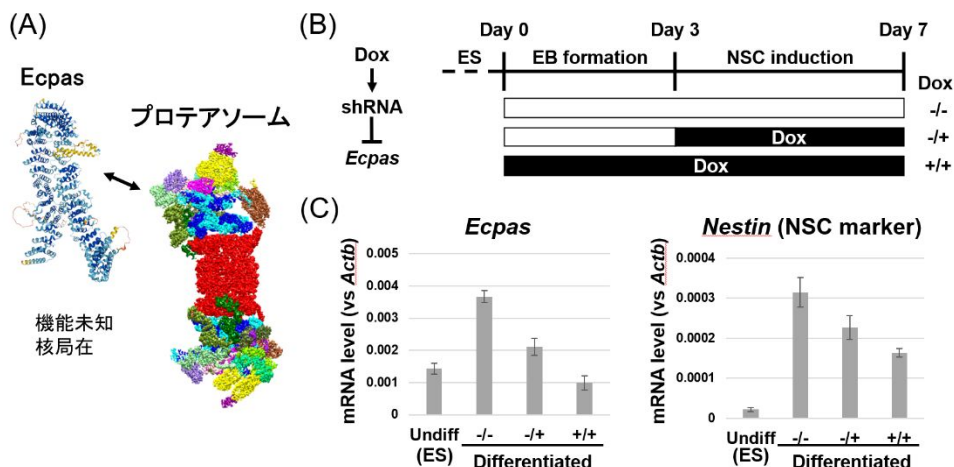


図3. プロテアソーム結合タンパク質ECPASの細胞分化への影響

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Tsuchiya Hikaru, Endo Akinori, Saeki Yasushi	4. 巻 13
2. 論文標題 Multi-Step Ubiquitin Decoding Mechanism for Proteasomal Degradation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 128 ~ 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph13060128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Genjiro, Imura Sei, Hosokawa Masato, Katsumata Ryu, Nonaka Takashi, Hisanaga Shin-Ichi, Saeki Yasushi, Hasegawa Masato	4. 巻 9
2. 論文標題 -synuclein strains that cause distinct pathologies differentially inhibit proteasome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e56825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.56825	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 佐伯 泰、安田 さや香、土屋 光	4. 巻 92
2. 論文標題 ストレスとユビキチンに依存したプロテアソームの液?液相分離	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 822 ~ 826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920822	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masuda Yuji, Saeki Yasushi, Arai Naoko, Kawai Hidehiko, Kukimoto Iwao, Tanaka Keiji, Masutani Chikahide	4. 巻 294
2. 論文標題 Stepwise multipolyubiquitination of p53 by the E6AP-E6 ubiquitin ligase complex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 14860 ~ 14875
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008374	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Yusuke, Tsuchiya Hikaru, Yamagata Atsushi, Okatsu Kei, Tanaka Keiji, Saeki Yasushi, Fukai Shuya	4. 巻 10
2. 論文標題 Structural insights into ubiquitin recognition and Ufd1 interaction of Npl4	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13697-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Sayaka, Tsuchiya Hikaru, Kaiho Ai, Guo Qiang, Ikeuchi Ken, Endo Akinori, Arai Naoko, Ohtake Fumiaki, Murata Shigeo, Inada Toshifumi, Baumeister Wolfgang, Fernandez-Busnadiego Ruben, Tanaka Keiji, Saeki Yasushi	4. 巻 578
2. 論文標題 Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 296 ~ 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-1982-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishiyama Atsuya, Mulholland Christopher B., Bultmann Sebastian, Kori Satomi, Endo Akinori, Saeki Yasushi, Qin Weihua, Trummer Carina, Chiba Yoshie, Yokoyama Haruka, Kumamoto Soichiro, Kawakami Toru, Hojo Hironobu, Nagae Genta, Aburatani Hiroyuki, Tanaka Keiji, Arita Kyohei, Leonhardt Heinrich, Nakanishi Makoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Two distinct modes of DNMT1 recruitment ensure stable maintenance DNA methylation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15006-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuo Yoshitaka, Tesina Petr, Nakajima Shizuka, Mizuno Masato, Endo Akinori, Buschauer Robert, Cheng Jingdong, Shounai Okuto, Ikeuchi Ken, Saeki Yasushi, Becker Thomas, Beckmann Roland, Inada Toshifumi	4. 巻 27
2. 論文標題 RQT complex dissociates ribosomes collided on endogenous RQC substrate SDD1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 323 ~ 332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41594-020-0393-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 佐伯 泰	4. 巻 56
2. 論文標題 最先端プロテオミクス解析を用いたユビキチン研究	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 21～25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/faruawpsj.56.1_21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 土屋 光、佐伯 泰	4. 巻 92
2. 論文標題 細胞内のユビキチン鎖長解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 14～19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xie, X., Matsumoto, S., Endo, A., Fukushima, T., Kawahara, H., Saeki, Y., and Komada, M.	4. 巻 131
2. 論文標題 Deubiquitylases USP5 and USP13 are recruited to and regulate heat-induced stress granules through deubiquitylating activities.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Cell. Sci.	6. 最初と最後の頁 jcs210856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.210856	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wu, W., Rokutanda, N., Takeuchi, J., Lai, Y., Maruyama, R., Togashi, Y., Nishikawa, H., Arai, N., Miyoshi, Y., Suzuki, N., Saeki, Y., Tanaka, K., and Ohta, T.	4. 巻 78
2. 論文標題 HERC2 facilitates BLM and WRN helicase complex interaction with RPA to suppress G-quadruplex DNA.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 6371-6385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-18-1877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomita, T., Hirayama, S., Sakurai, Y., Ohte, Y., Yoshihara, H., Saeki, Y., Hamazaki, J., and Murata, S.	4. 巻 39
2. 論文標題 Specific modification of aged proteasomes revealed by tag-exchangeable knock-in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Cell Biol.	6. 最初と最後の頁 e00426-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00426-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Machida, K., Arai D., Katsumata, R., Otsuka, S., Yamashita, JK., Ye, T., Tang, S., Fusetani, N., Nakao, Y.	4. 巻 26
2. 論文標題 Sameuramide A, a new cyclic depsipeptide isolated from an ascidian of the family Didemnidae.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 3852-3857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2018.06.042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura, F., Maejima, H., Kawamura, M., Arai, D., Okino, T., Zhao, M., Ye, T., Lee, J., Chang, YT., Fusetani, N., Nakao, Y.	4. 巻 28
2. 論文標題 Kakeromamide A, a new cyclic pentapeptide inducing astrocyte differentiation isolated from the marine cyanobacterium Moorea bouillonii.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorg. Med. Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 2206-2209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2018.04.067	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohtake, F., Tsuchiya, H., Tanaka, K., and Saeki, Y.	4. 巻 618
2. 論文標題 Methods to measure ubiquitin chain length and linkage.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Enzymol.	6. 最初と最後の頁 105-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2018.12.019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Yoshida, Y., Saeki, Y., Tsuchiya, H., and Tanaka, K.	4. 巻 618
2. 論文標題 Method for detecting ubiquitination activity and identifying ubiquitinated substrates.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Enzymol.	6. 最初と最後の頁 135-147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2018.12.032	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeuchi, K., Tesina, P., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Cheng, J., Saeki, Y., Tanaka, T., Becker, T., Beckmann, R., and Inada, T.	4. 巻 38
2. 論文標題 Collided ribosomes form a unique structural interface to induce Hel2-driven quality control pathways.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO J.	6. 最初と最後の頁 e100276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2018100276	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arai Daisuke, Nakao Yoichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Efficient biallelic knock-in in mouse embryonic stem cells by in vivo-linearization of donor and transient inhibition of DNA polymerase $\gamma$ /DNA-PK	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97579-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 遠藤彬則、土屋光、田中啓二、佐伯泰
2. 発表標題 RAD23BはLLPSを駆動するユビキチンデコーダーである
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐伯 泰、遠藤彬則、土屋 光、大竹史明
2. 発表標題 ケモテクノロジーと質量分析計を活用したユビキチンコードの解読
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会 第14回年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 泰
2. 発表標題 ユビキチン研究の新展開 相分離から分解誘導剤まで
3. 学会等名 第19回 日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学会大会 合同年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 泰
2. 発表標題 Orbitrap Fusion Lumosを使った革新的ユビキチン研究
3. 学会等名 サーモフィッシャーサイエンティフィック 質量分析フォーラム2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 泰
2. 発表標題 ユビキチンによるタンパク質分解のしくみ: We will degrade you!
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 泰
2. 発表標題 MSを用いたユビキチンシグナルの網羅的解析
3. 学会等名 第11回 LC/MSワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 泰
2. 発表標題 高浸透圧ストレスによるプロテアソーム液滴形成と核内タンパク質分解
3. 学会等名 第14回日本臨床ストレス応答学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Saeki
2. 発表標題 Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome
3. 学会等名 42nd MBSJ, Symposium "Frontiers of in-cell protein sciences" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Saeki
2. 発表標題 Ub-ProT reveals global length and composition of protein ubiquitylation in cells.
3. 学会等名 The 8th Proteasome and Autophagy Congress. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasushi Saeki
2. 発表標題 The Cdc48-Rad23/Dsk2 Axis Contributes to K48 Ubiquitin Chain Specificity of the Proteasome.
3. 学会等名 FASEB SRC “Ubiquitin and Cellular Regulation” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daisuke Arai, Yoichi Nakao
2. 発表標題 Improvement of homology-directed repair-mediated knock-in efficiency in mouse embryonic stem cells by using small compounds
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 土屋 光、佐伯 泰	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東京化学同人	5. 総ページ数 5
3. 書名 相分離生物学の全貌	

1. 著者名 安田さや香、田中啓二、佐伯 泰	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 6
3. 書名 イメージング時代の構造生命科学	

1. 著者名 新井大祐, 中尾洋一	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 6
3. 書名 実験医学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>公益財団東京都医学総合研究所研究室ホームページ  <a href="https://www.igakuken.or.jp/pro-meta/">https://www.igakuken.or.jp/pro-meta/</a>          東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命専攻ホームページ  <a href="http://www.cbms.k.u-tokyo.ac.jp/lab/rinsho.html#saeki">http://www.cbms.k.u-tokyo.ac.jp/lab/rinsho.html#saeki</a>          公益財団法人東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室ホームページ  <a href="http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/">http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/</a>          液 - 液相分離が担う核内タンパク質分解機構の発見  <a href="http://www.igakuken.or.jp/topics/2020/0205.html">http://www.igakuken.or.jp/topics/2020/0205.html</a>          Proteasome Phase separation for destruction  <a href="http://www.igakuken.or.jp/english/topics/2020/e-0206.html">http://www.igakuken.or.jp/english/topics/2020/e-0206.html</a>          公益財団法人東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室ホームページ  <a href="http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/">http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/</a></p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	新井 大祐  (ARAI Daisuke)  (20624951)	早稲田大学・理工学術院・講師(任期付)    (32689)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
ドイツ	Max Planck Institute of Biochemistry		