

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H00997

研究課題名(和文)プロテアソームの細胞生理学

研究課題名(英文)Cell Biology of Proteasomes

研究代表者

田中 啓二(TANAKA, Keiji)

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・理事長

研究者番号：10108871

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,100,000円

研究成果の概要(和文)：プロテアソームによる選択的タンパク質分解経路においては、標的タンパク質に提示されるユビキチン修飾の高次構造情報(ユビキチンコード)とその識別分子(デコーダー)の使い分け、さらにプロテアソームの制御機構など未解明な課題が山積している。本研究では、プロテアソームの機能減弱マウスの作出による個体レベルの病態と生理の解明に加えてプロテアソーム創薬の分子基盤を提供することを目標に、ストレスに応答した液液相分離依存的なタンパク質分解機構という新概念の確立に成功すると共に標的タンパク質分解誘導剤PROTACsにユビキチン分岐鎖とその創成酵素の関与を明らかにして次世代創薬研究への可能性を開拓した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、タンパク質分解の細胞内機構と病態生理研究は飛躍的に進展しつつあり、本研究では、その中核酵素であるプロテアソームの基礎研究から病態解明及び創薬研究への道を開拓した。プロテアソームの変異疾患が相次いで報告されているが、それらを検証するための機能減弱マウスの作出に世界で初めて成功した。またプロテアソームが環境ストレスに反応して可逆的に相分離しタンパク質の迅速分解に貢献していることの発見は、神経変性疾患における易凝集性タンパク質の異常による封入体形成機序解明のヒントになる。標的タンパク質分解誘導剤PROTACsにおけるユビキチン分岐鎖と創成酵素の発見は、次世代創薬研究への波及効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In the selective proteolytic pathway by proteasomes, there are many unresolved issues, such as the use of higher-order structural information of ubiquitin modifications presented to target proteins (referred as ubiquitin code) and their discriminating molecules (referred as decoders), as well as the action and regulatory mechanisms of proteasomes. In this study, we aimed to elucidate the pathology and physiology of the proteasome at in vivo level by creating mice with functionally weak activity of proteasomes and to provide a molecular basis for proteasome drug discovery. We successfully established a new concept of liquid-liquid phase separation-dependent proteolysis mechanism responsible for environmental stresses. Moreover, we have also clarified the involvement of ubiquitin-branched chains and identification of their generating enzymes in the selective proteolysis inducer PROTACs, opening a new possibility for next-generation drug discovery research.

研究分野：生化学

キーワード：プロテアソーム ユビキチン 細胞内タンパク質分解 液液相分離 神経変性疾患 遺伝学的解析
ストレス応答 PROTACs

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまで酵素学的・構造学的研究(一次構造や高次構造の解析)を中心に分子レベルでのプロテアソーム研究に邁進してきたが、本研究では新たにプロテアソームの細胞生理学に取り組むとともに、ヒト疾患に関わる病理学への展望を視野に、次世代のプロテアソーム研究を開拓することを目標とした。特にプロテアソームのタンパク質分解研究においては、これまでプロテアソームが標的基質(ポリユビキチン化タンパク質)を直接トラップして分解する直接的経路が主流と考えられていたが、この経路は主流でなく、最近、研究代表者らは細胞内では90%以上の標的タンパク質がシャトル分子(UBL-UBAタンパク質:UBAドメインでポリユビキチン化タンパク質を捕捉しUBLドメインでプロテアソームに受け渡す仲介因子)を介した非間接的経路であることを酵母の系で明らかにした。一方、哺乳細胞におけるプロテアソームの作動機構やストレスに応答した細胞内における動態は不明であった。さらにユビキチン化は、プロテアソーム分解に加え、オートファジー(選択的)分解、シグナル伝達、膜タンパク質の輸送など様々な細胞機能を制御していることが判明してきた。このようなユビキチンの多彩な機能はユビキチン修飾の構造多様性に由来しており、その機能情報は「ユビキチンコード」と称されるに至っている。しかし、ユビキチンコードの解析は技術的な障壁が高く、その作動機構の全貌はいまだ不明であった。そこで、研究代表者のグループは、独自に開発した最先端の高分解能プロテオミクス技術を駆使して、ユビキチンコードの全貌解明に迫った。このようにユビキチンプロテアソーム系(UPS)は、発見以来約40年が経過するが、依然として多くの未解明な課題が山積しており、最先端の質量分析(mass spectrometry:MS)技術を導入した新しいタンパク質分解の仕組みの解明が希求されていた。

2. 研究の目的

研究代表者はエネルギー依存性のタンパク質分解装置であるプロテアソームの構造と機能の解明を目指した研究を包括的に推進し、分子基盤の確立や動作原理の解明など多くの課題の解明に成功してきた。その結果、細胞内タンパク質分解に関する分子生物学的研究が飛躍的に発展し、多くの知見が集積しつつある一方、現在、プロテアソームの生理学研究においてはまだ不明の重要なテーマが数多く残っている。実際、プロテアソームの発現量や活性が加齢やストレスにより変動すること、プロテアソームの機能低下が神経変性疾患、老化、発達障害などに関与することがハエや線虫などで報告されているが、哺乳動物個体では実証されていない。そこで本研究では、プロテアソームの細胞生理学的理解を深化するために、第一にこれまで殆ど研究されてこなかった個体レベルでのプロテアソームの動態や機能の解析を目指した。そのためにプロテアソームの機能減弱マウスや発現レベル・局在を可視化するためのノックイン(KI)マウス、活性レベルをモニターするトランスジェニック(Tg)マウスなど複数の遺伝子改変動物を独自のアイデアに基づいて作出することを計画した。第二に、研究代表者らが偶然見出した、既存の概念とは一線を画したプロテアソーム動態の不思議な現象、即ち「ストレスに応答して生じるプロテアソーム顆粒(非膜性構造体)の時空間的なダイナミズム」の解析を目指した。特にこの新規のプロテアソーム顆粒が、近年、世界中で注視されている液滴 Liquid Droplets (= Biomolecular Condensates, Membrane-less Organelles)であり、それらが液-液相分離 Liquid-Liquid Phase Separation (LLPS) で形成されるか否かについて、物理化学的手法で解明すると共にその生理学的意義を解明することを目標にした。第三に、ユビキチンコード(様々なユビキチン鎖の高次構造が有する多彩な情報)の解析を目標に、定量プロテオミクス技術と化学ツールを駆使し、ユビキチンコードの全体像を解明することに挑んだ。これらの課題は、ユビキチンをパートナーとするプロテア

ソームの細胞生理学研究において新たな領域を開拓することを念頭に研究代表者のライフワーク研究の集大成として企図した。

3. 研究の方法

(1) プロテアソーム遺伝子改変マウスの作出

研究代表者らは、プロテアソーム構成サブユニット psmd12 の異なる部位に変異をもつ3種類のヘテロ変異マウスを系統化することに成功した。これらの変異マウスのうち、最も欠失領域が大きい系統について、理研マウスクリニックにて生化学的解析、行動解析を実施した。またプロテアソームの量（発現レベル）や局在を定量的にモニター（可視化）できるマウスとして PSMB2-EGFP-3FLAG^{KI/KI} KI（ノックイン）マウスを作出した。さらにプロテアソームの活性をモニターできる mCherry-P2A-EGFP-deg Tg（トランスジェニック）マウス（プロテアソーム活性が弱い場合、緑/赤の蛍光比が高い値となる）も作出した。前者は蛍光標識プロテアソーム遺伝子導入マウスであり、後者は P2A self-cleaving peptide とユビキチン非依存的プロテアソーム依存的に急速分解される蛍光基質（deg : d410 [ODC degron]）をマウス遺伝子に組み込んだ遺伝子導入マウスである。In vivo での活性評価は、マウス組織を透明化後にライトシート顕微鏡を用いたレシオ測定蛍光イメージングによる定量解析を行って検証した。

(2) プロテアソームの核内顆粒（P-Foci）とサイトゾル顆粒（C-Granules）の解析

研究代表者らはプロテアソームサブユニットに蛍光タンパク質 GFP をノックインしたヒト培養細胞株（過剰発現でなく、tagging も毒性がなく細胞は正常）を作出し、プロテアソームの動態観察に供した。その結果、活発に増殖している細胞では、プロテアソームは核と細胞質に各々1 μM と 100 nM の濃度で均一に拡散して存在するが、研究代表者らは、プロテアソームが環境ストレスに曝されると核と細胞質において急速に凝縮して、特異的な顆粒（非膜性構造体）を形成することをヒト培養細胞で発見した。これらの核と細胞質で発見した顆粒を各々P-Foci およびC-Granules と命名し、それらの形成機構と生理的意義の解明のために最先端の「トライブリッド」型超高分解能質量分析計（Orbitrap Fusion Lumos）を駆使して核内 P-Foci 顆粒やサイトゾル C-Granules 顆粒に含まれるタンパク質を網羅的に解析した。

(3) ユビキチンコードの解析

ユビキチンをパートナーとするプロテアソーム系（UPS）による選択的タンパク質分解経路は、ユビキチン化に関与するユビキチンリガーゼについては広く研究がなされているが、標的タンパク質に提示されるユビキチン修飾の高次構造情報（ユビキチンコード）とその識別分子（デコーダー分子）の使い分けと機能連携、さらにプロテアソームの制御機構に関しては未解明である。そこで、研究代表者らは、上記の超高分解能質量分析計（Orbitrap Fusion Lumos）を駆使して細胞内のユビキチン鎖の解析を網羅的に行った。質量分析計を用いたユビキチン化基質の高深度プロテオーム解析法（parallel reaction monitoring: PRM）、とくにユビキチン分岐鎖の解析には、ミドルダウン質量分析により、細胞内で形成されているユビキチン鎖の高次構造を決定した。さらに UPS により分解されるタンパク質は 5,800 種類以上存在すると想定されており、UPS 制御分子の機能解析には網羅的な解析が必須となる。そこで質量分析計 Orbitrap Fusion Lumos を用いた高深度比較プロテオーム解析やユビキチン化基質の網羅的同定法を開発しリードアウトとすることで個々のデコーダー分子の基質選択性を解析した。

4. 研究成果

(1) プロテアソーム遺伝子改変マウスの作出

本研究で作出に成功した世界初のプロテアソーム機能減弱 psmd12^{+/-m} マウスは、発育遅延や運動障害の症状を示し、個体レベルでのプロテアソームの働きを調べるために、非常に有用であった。この変異マウスは、運動障害や、行動異常、老化に焦点を当てた

表現型解析、生化学的解析を実施し、プロテアソーム機能の低下による病態発症機構を解明しつつある。また理研マウスクリニックにて生化学的解析、行動解析を実施したところ、肝機能低下、栄養不良、頭部形態異常、白血球数増加、動き出し遅延、文脈依存学習記憶の異常が有意に検出された(論文準備中)。一方、プロテアソームの発現・局在をモニターできる PSMB2-EGFP-3FLAG^{KI/KI} KI(ノックイン)可視化マウスでは、尾から採取・初代培養した線維芽細胞において、予想通り PSMB2(プロテアソームβ4)が細胞質に比して核で濃染されていることが確認された。現在、加齢に伴うプロテアソーム機能低下がどの組織から始まるかについて解析しつつある。さらにプロテアソームの活性をモニターできる mCherry-P2A-EGFP-deg Tg(トランスジェニック)マウスとしては、プロテアソームのレシオメトリックセンサー(mCherry-P2A-EGFP-deg)の Rosa26-KI マウス(プロテアソーム活性モニターマウス)の作出に成功した。そして上記 psmd12 変異マウスとプロテアソーム活性レポーターマウス(mCherry-P2A-eGFPdeg, Rosa26 KI)を交配し系統化した。同マウスの MEF 細胞を用いてレシオメトリック蛍光測定を実施したところ、プロテアソーム活性(eGFP/mCherry)が野生型に較べ約 30%低下していることが明らかとなった。In vivo での活性評価は、マウス組織を透明化後にライトシート顕微鏡を用いたレシオ測定蛍光イメージングによる定量解析を行っている。今後、Cre-loxP システムを導入して条件的プロテアソーム機能減弱マウスを作出し、細胞・臓器におけるプロテアソームの個別の役割を in vivo で解析することを計画している。

(2) プロテアソームの核内顆粒(P-Foci)とサイトゾル顆粒(C-Granules)の解析

研究代表者らは高浸透圧ストレス刺激によりプロテアソームが核内に液滴(P-Foci)を形成し核内タンパク質の品質管理に関与すること、K48 連結型ユビキチン鎖とシャトル分子 RAD23B が多価性相互作用(Multivalent Interaction)によりプロテアソームの液-液相分離を駆動することを見出した。高分解能質量分析計(MS)により、P-Foci の構成因子として、プロテアソームへ基質(ユビキチン化タンパク質)を運搬する RAD23B(シャトル分子)、p97/VCP AAA+ATPase(ユビキチンシャペロン)、UBE3A/E6AP(ubiquitin E3 ligase)などを同定した。そして P-Foci は種々の物理化学的性質、即ち顆粒の融合、Circularity(円形度~1.0)、高い流動性(Fluorescence recovery after photobleaching: FRAP)、両親媒性アルコール溶解性などの解析から、液滴(Liquid droplets = Membrane-less Organelles, Biomolecular Condensates)であること、そして RAD23B とポリユビキチン鎖の多価性相互作用(Multivalent Interaction)に依存した液-液相分離(Liquid-Liquid Phase Separation: LLPS)で形成されることを in vivo・in vitro で明らかにした。そしてこの P-Foci は既存の核内構造体とは異なった新規な核内構造体であり、既知の浸透圧ストレス応答シグナル経路に依存しなかった。興味深いことに全ての P-Foci はユビキチンを含み、ユビキチン化を阻害するとその形成は完全に抑制された。また RAD23B のサイレンシング(KO)も高浸透圧ストレス依存的な P-Foci の形成を完全に抑制した。加えてプロテアソーム阻害剤処理により巨大化し、そのクリアランス(消失・浄化)が著しく遅延したことから、核内でストレスにより生じた異常タンパク質を急速分解するセンター(Protein Quality Control: PQC)になっていることが判明した。さらに質量分析計(MS)を用いた解析から、高浸透圧ストレス依存的にユビキチン化修飾がみられるタンパク質として、多数のリボソームサブユニットやヒストン H1 を同定した。さらに、同定したリボソームサブユニットやヒストン H1 に対する特異抗体を用いた細胞内局在の観察から、高浸透圧ストレス依存的にリボソームタンパク質や染色体のヒストン H1 が P-Foci に集積して凝集体を形成し、これが経時的にプロテアソームにより消去されることを確認した。この結果より、P-Foci は核内のタンパク質分解センターであることが示唆された。これらの知見を基に研究代表者らは「異常タンパク質がユビキチン化されて凝集体を形成し、それらを足場としてプロテアソームが集積・分解し、異常タンパク質の蓄積を抑制する」という新しいタンパク質分解モデルを提唱した(Nature 2020)。さらに研究代表者らはプロテアソームサブユニットに

蛍光タンパク質 GFP をノックインしたヒト培養細胞株において、解糖系と呼吸鎖の阻害剤 (2-Deoxy-D-glucose + NaN_3) を添加して ATP を枯渇させると細胞質にプロテアソーム顆粒 (C-Granules) が生じることを見出した。そして顆粒内のプロテアソームが活性型である (触媒活性部位に共有結合する蛍光 Probe で検出) ことやユビキチン結合アダプター p62 (ユビキチンと共同して相分離・液滴化を引き起こす分子) が含まれることなども明らかにしており、核内で生じる P-Foci とは、構成成分が異なっていることを見出した。この ATP レベル低下によって形成するプロテアソーム液滴 (C-Granules) について MS 解析を進めたところ、ATP 低下によってユビキチン化プロテオームが大規模にリモデリングされること、種々の複合体由来オーファンタンパク質がユビキチン化され RAD23B を介して液-液相分離 (LLPS) することが明らかとなった。この ATP ストレス応答性液滴は、ATP レベルが回復すると速やかに消失するが、プロテアソームの分解活性は必要なく、プロテアソームの脱ユビキチン化活性とユビキチン選択的シャペロン p97 ATPase 活性が必要であった。つまり、本液滴の機能はユビキチン化タンパク質の迅速かつ一過的な隔離であると推定された。また、興味深いことに、ATP レベル低下が長時間続くとユビキチン化タンパク質が不溶化したため、相分離が凝集体形成 (液-固転移) に関与することが明らかとなった (投稿準備中)。これらの知見は、神経変性疾患の発症機構との関連性から注目される。

(3) ユビキチンコードの解析

近年、ユビキチンコードの多様性は世界的に注目されているが、その高次構造解析は難解を極めてきた。そこで、研究代表者のグループは、ミドルダウン質量分析により、細胞内で形成されているユビキチン鎖の高次構造を決定すると共に、安定同位体標識した化学合成ユビキチンを内部標準とすることで絶対定量系を確立し、ユビキチンコードの複雑性を解明してきた。一方、プロテアソーム阻害剤ベルケイドやセレブロンモジュレーターのレナリドミドが多発性骨髄腫の治療薬として大きな成功をおさめ、現在、米国のベンチャー企業およびアカデミアを中心に「UPS 創薬」が爆発的に進展している。特にタンパク質分解誘導剤 PROTAC (Proteolysis-targeting chimera) は UPS を利用した新しい創薬モダリティとして脚光を浴びており、これまで undruggable とされた抗がん剤ターゲットへの応用展開が国内外でしのぎを削っている。このような社会的趨勢により、UPS の基礎研究に対するニーズと期待が急速に高まっているが、PROTAC の作動機構におけるユビキチン鎖の多様性については、殆ど研究されていない。研究代表者のグループは、エピゲノム制御分子 BRD4 を標的とした VHL 型 PROTAC の作用を促進する補助因子 TRIP12 を同定し、二つのユビキチンリガーゼが協調して K29/K48 分岐型ユビキチン鎖を形成することで、プロテアソーム分解を促進させることを明らかにした (Mol Cell 2021)。またごく最近、cIAP1 の分解誘導剤 LCL-161 (SMAC ミメテイクス: SM) が、K11/K48/K63 分岐鎖の形成を誘導し、cIAP1 のプロテアソーム分解を強力に促進することを明らかにした (論文改訂中)。このように本研究において、ケミカルプロテインデグラダータンパク質分解誘導剤 PROTAC が誘導する新たなユビキチン修飾、新規 PROTAC 開発、ユビキチン化学プローブ開発などについて著しい進展があった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 23件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 21件）

1. 著者名 Noda, S., Sato, S., Fukuda, T., Tada, N., Uchiyama, Y., Tanaka, K., and Hattori, N.	4. 巻 136
2. 論文標題 Loss of Parkin contributes to mitochondrial turnover and dopaminergic neuronal loss in aged mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurobiol Dis.	6. 最初と最後の頁 104717
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nbd.2019.104717.	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 Nishiyama, A., Mulholland, C.B., Bultmann, S., Kori, S., Endo, A., Saeki, Y., Qin, W., Trummer, C., Chiba, Y., Yokoyama, H., Kumamoto, S., Kawakami, T., Hojo, H., Nagae, G, Aburatani, H., Tanaka, K., Arita, K., Leonhardt, H., and Nakanishi, M.	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 Nat Commun.	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 Yamano, K., Kikuchi, R., Kojima, W., Hayashida, R., Koyano, F., Kawawaki, J., Shoda, T., Demizu, Y., Naito, M., Tanaka, K., and Matsuda, N.	4. 巻 219
2. 論文標題 Critical role of mitochondrial ubiquitination and the OPTN-ATG9A axis in mitophagy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Cell Biol.	6. 最初と最後の頁 e201912144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.201912144.	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 Matsuki Y, Matsuo Y, Nakano Y, Iwasaki S, Yoko H, Udagawa T, Li S, Saeki Y, Yoshihisa T, Tanaka K, Ingolia NT, Inada T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Ribosomal protein S7 ubiquitination during ER stress in yeast is associated with selective mRNA translation and stress outcome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 19669
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-76239-3.	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 Watanabe M, Saeki Y, Takahashi H, Ohtake F, Yoshida Y, Kasuga Y, Kondo T, Yaguchi H, Suzuki M, Ishida H, Tanaka K, Hatakeyama S.	4. 巻 3
2. 論文標題 A substrate-trapping strategy to find E3 ubiquitin ligase substrates identifies Parkin and TRIM28 targets.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01328-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 Oikawa D, Sato Y, Ohtake F, Komakura K, Hanada K, Sugawara K, Terawaki S, Mizukami Y, Phuong HT, Iio K, Obika S, Fukushi M, Irie T, Tsuruta D, Sakamoto S, Tanaka K, Saeki Y, Fukai S, Tokunaga F.	4. 巻 3
2. 論文標題 Molecular bases for HOIPINs-mediated inhibition of LUBAC and innate immune responses.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-0882-8.	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 -

1. 著者名 Fuseya Y, Fujita H, Kim M, Ohtake F, Nishide A, Sasaki K, Saeki Y, Tanaka K, Takahashi R, Iwai K.	4. 巻 22
2. 論文標題 The HOIL-1L ligase modulates immune signalling and cell death via monoubiquitination of LUBAC.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat Cell Biol.	6. 最初と最後の頁 663-673
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41556-020-0517-9.	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, S.,* Tsuchiya, S.,* Kaiho, A.,* Guo, Q., Ikeuchi, K., Endo, A., Arai, N., Ohtake, F., Murata, S., Inada, T., Baumeister, B., Fernandez-Busnadiego, R., Tanaka, K. **, and Saeki, Y. ** (*These authors contributed equally, **Corresponding authors)	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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikeuchi, K., Tesina, P., Matsuo, Y., Sugiyama, T., Cheng, J., Saeki, Y., Tanaka, K., 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 pii: 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koyano, F., Yamano, K., Kosako, H., Tanaka, K., and Matsuda, N.	4. 巻 294
2. 論文標題 Parkin recruitment to impaired mitochondria for nonselective ubiquitylation is facilitated by MITOL.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 10300-10314.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.006302.	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 Koyano, F., Yamano, K., Kosako, H., Kimura, K., Kimura, M., Fujiki, Y., Tanaka, K., and Matsuda, N.	4. 巻 20
2. 論文標題 Parkin-mediated ubiquitylation redistributes MITOL/March5 from mitochondria to peroxisomes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO Reports	6. 最初と最後の頁 e47728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.201947728.	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 Ohigashi, I., Tanaka, Y., Kondo, K., Fujimori, S., Kondo, H., Palin, A-C., Hoffmann, V., Kozai, M., Matsushita, Y., Uda, S., Motosugi, R., Hamazaki, J., Kubota, H., Murata, S., Tanaka, K., Katagiri, T., Kosako, H., and Takahama, Y.	4. 巻 29
2. 論文標題 Trans-omics impact of thymoproteasome in cortical thymic epithelial cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2901-2916.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.10.079.	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 Sato, Y., Tsuchiya, H., Yamagata, A., Okatsu, K., Tanaka, K., Saeki, Y., and Fukai, S.	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 Nat Commun.	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 Tanaka K.	4. 巻 S0168-0102
2. 論文標題 The PINK1-Parkin axis: An Overview.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 30571-1.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.01.006.	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 Takahama, Y., Ohigashi, I., Murata, S., and Tanaka, K.	4. 巻 71
2. 論文標題 Thymoproteasome and peptidic self.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunogenetics	6. 最初と最後の頁 217-221.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00251-018-1081-3.	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 Yoshida, Y., Mizushima, T., and Tanaka, K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Sugar-recognizing ubiquitin ligases - action mechanisms and physiology.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Physiol.	6. 最初と最後の頁 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2019.00104.	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 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 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 Yoshida, Y., Saeki, Y., Tsuchiya, H., and Tanaka, K.	4. 巻 618
2. 論文標題 Detection of ubiquitination activity and identification of ubiquitinated substrates using TR-TUBE.	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 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 Tanahashi N, Komiyama M, Tanaka M, Yokobori Y, Murata S, Tanaka K.	4. 巻 105
2. 論文標題 The effect of nutrient deprivation on proteasome activity in 4-week-old mice and 24-week-old mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Nutr Biochem.	6. 最初と最後の頁 108993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jnutbio.2022.108993.	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 Kojima, K., Yamano, K., Kosako, H., Imai, K., Kikuchi, R., Tanaka, K., and Matsuda, M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Mammalian BCAS3 and C16orf70 associate with the autophagosome formation site in response to selective and non-selective autophagy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Autophagy	6. 最初と最後の頁 PMID:33499712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Yoshida, Y. *, Asahina M., Murakami, A., Kawawaki, J., Yoshida, M., Fujinawa, R., Iwai, K., Tozawa, R., Matsuda, N., Tanaka, K. *, and Suzuki, T. * (*TCorresponding authors)	4. 巻 118
2. 論文標題 Loss of peptide:N-glycanase causes proteasome dysfunction through a sugar-recognizing ubiquitin ligase.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci USA.	6. 最初と最後の頁 e2102902118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2102902118.	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 Queliconi BB, Kojima W, Kimura M, Imai K, Udagawa C, Motono C, Hirokawa T, Tashiro S, Caaveiro JMM, Tsumoto K, Yamano K, Tanaka K, Matsuda N,	4. 巻 134
2. 論文標題 Unfolding is the driving force for mitochondrial import and degradation of the Parkinson's disease-related protein DJ-1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Sci.	6. 最初と最後の頁 jcs258653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/jcs.258653.	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 Kaiho-Soma, A., Akizuki, Y., Igarashi, K., Endo, A., Shoda, T., Kawase, Y., Demizu, Y., Naito, M., Saeki, Y., Tanaka, K., and Ohtake, F.	4. 巻 81
2. 論文標題 TRIP12 promotes small molecule-induced degradation of BRD4 through K29/K48 branched ubiquitin chains.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mol Cell	6. 最初と最後の頁 1411-1424.e7.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molcel.2021.01.023.	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 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム ~ 基礎から医学応用へ ~
3. 学会等名 第24回日本がん分子標的治療学会 (基調講演 1) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム ~ 基礎から最先端研究へ ~
3. 学会等名 第29回泌尿器科分子・細胞研究会：未知との遭遇～基礎研究は楽しい～ イブニングセミナー2（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 タンパク質分解：プロテアソームとオートファジー
3. 学会等名 第24回日本肝臓学会大会：特別講演（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム ~ 選択的なタンパク質リサイクルシステム ~
3. 学会等名 第13回オートファジー研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム ~ 基礎から最先端研究へ ~
3. 学会等名 第3回 ヒトレトロウイルス学共同研究セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 細胞内恒常性機能維持機とがん・老化関連疾患.
3. 学会等名 第4回 肺トランスレーショナルメデイシン研究会「肺線維症における細胞老化の意義と治療的応用」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiji Tanaka
2. 発表標題 The Proteasome ~ Action Mechanisms and Spatiotemporal Dynamics ~
3. 学会等名 Ken-ichi Arai Memorial Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiji Tanaka
2. 発表標題 Phase Separated Proteasome Condensates: For Nuclear Proteolysis.
3. 学会等名 Joint Annual Meeting of 71st JSCB & 19th PSSJ, Joint Symposium. Emerging concepts of protein science: From nanoscale to cells (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム～ 相分離が拓く新しいタンパク質分解機構 ~
3. 学会等名 第二回 形態解析ワークショップ - 多様な顕微鏡を用いて (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Keiji Tanaka
2. 発表標題 The Proteasome : Stress and Phase Separation
3. 学会等名 NIH-Japan-JSPS Symposium: Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 私のプロテアソーム研究～温故知新～
3. 学会等名 先端モデル動物支援プラットフォーム (AdAMS) 成果発表会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム～基礎から医学研究へ～
3. 学会等名 星薬科大学 先端生命科学研究所 Webシンポジウム「新しい薬のモダリティ」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中啓二
2. 発表標題 プロテアソーム～基礎から医学研究へ～
3. 学会等名 第101回 北海道医学大会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 田中啓二、若槻壮市	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 240
3. 書名 実験医学	

1. 著者名 田中啓二	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 35
3. 書名 Medical Science Digest	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 「プロテアソーム機能減弱トランスジェニック非ヒト動物」	発明者 佐伯泰、土屋光、安田さや香、相馬（海保）愛、設楽浩史、	権利者 公益財団法人東京大学医学総合研究所
産業財産権の種類、番号 特許、2021-166891	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------