

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ユビキチンシグナル発動機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Deciphering the complexity of ubiquitin signaling			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)サエキ	名)ヤスシ	研究期間 B	2013～ 2014 年
	漢字 CB	佐伯	泰	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Saeki	Yasushi	研究機関名	(公財)東京都医学総合研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		公益財団法人東京都医学総合研究所・副参事研究員			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめて下さい。)</p> <p>ユビキチンによるタンパク質の翻訳後修飾は、プロテアソーム分解だけでなく、シグナル伝達や DNA 修復、タンパク質の輸送など広汎な生命機能を制御することが明らかになってきた。ユビキチン修飾にはモノユビキチン化と 8 種類の異なる構造のポリユビキチン鎖(K6 鎖、K11 鎖、K27 鎖、K33 鎖、K48 鎖、K63 鎖および M1 鎖)が存在し、これらが異なるユビキチン結合(UBD:Ubiquitin-binding domain)タンパク質により選択的に識別されることで異なる機能を発揮すると考えられている。しかしながら、UBD タンパク質が細胞内においてどのタイプのユビキチンシグナルを識別しているのか、どの程度ユビキチン鎖タイプに特異性があるのかなど未だ不明が多い。そこで本研究では主要な UBD タンパク質について細胞内で相互作用するユビキチン鎖を内在性のレベルで網羅的に解析することで、ユビキチンシグナル発動のメカニズム解明を試みた。プロテアソーム分解、TGN におけるタンパク質輸送、エンドサイトーシス、MVBs 経路、オートファジーの各経路で機能する UBD タンパク質をそれぞれ免疫沈降し、共沈降するユビキチン化基質について、高分解能質量分析計を用いた Parallel Reaction Monitoring (PRM)によりユビキチン鎖の絶対定量を行った。その結果、ユビキチン選択的シャペロン Cdc48/VCP/p97 のコファクター、プロテアソーム分解に関与する UBL-UBA タンパク質は K48 鎖に、TGN やエンドサイトーシスに関与する UBD タンパク質は K63 鎖に対して高い選択性がみられた。興味深いことに、MVBs 経路およびオートファジー経路で機能する UBD タンパク質は K48 鎖および K63 鎖の双方が検出された。一方、K27 鎖などのマイナーなユビキチン鎖に特異的に結合する UBD タンパク質は得られなかった。従来、MVBs 経路はモノユビキチン化か K63 鎖が積荷の取り込みとリソソーム分解に重要とされていたが、様々な阻害剤や変異体を用いた解析より、同経路の UBD タンパク質 ESCRT-0 がエンドソーム上で K63 鎖のみならず K48 鎖を認識すること、プロテアソーム阻害剤や ER ストレスにより ESCRT-0 と結合する K48 鎖が増加したことから、オートファジー分解のみならず MVBs 経路もプロテアソーム分解を補償することが明らかとなった。</p>					
キーワード FA	ユビキチン	タンパク質分解	質量分析計	定量プロテオミクス	

(以下は記入しないで下さい。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

Ubiquitylation is involved in numerous important cellular processes, e.g., proteasomal degradation, DNA repair, protein sorting, and signal transduction. Cells contain eight structurally distinct types of homopolymeric ubiquitin (Ub) chains (M1-, K6-, K11-, K27-, K29, K33, K48-, and K63-linked chains) and heterogeneous chains such as branched chains. It has been proposed that Ub-binding domain (UBD) proteins function as decoder/reader proteins that recognize and transduce the Ub signals to specific cellular responses, but their physiological regulatory mechanism and Ub linkage specificities remain obscure. In this study, we performed a quantitative proteomics to investigate ubiquitin chain selectivity of major UBD proteins at endogenous levels. Among 14 UBD proteins involved in distinct cellular pathways, the Cdc48/VCP/p97 cofactors, and the UBL-UBA domain proteins showed strong selectivity to K48- and K29-linked ubiquitin chains (~90% and ~5% of total linkages). This accounts for the ubiquitin chain selectivity of the proteasomal degradation. By contrast, the UBD proteins in TGN and endocytosis showed modest specificity to K63-linked chains (40-75% of total linkages). Unexpectedly, the ESCRT-0 complex in MVBs pathway and the autophagy adaptor protein have no selectivity to K48- and K63-linked ubiquitin chains. The ESCRT-0-bound K48-linked chains were increased by bortezomib treatment and ER stress. Thus, the MVBs pathway as well as autophagy might function as backup routes of the proteasomal degradation.