【基盤研究（S）】

プロテアソームとユビキチンコードの統合的理解



研究代表者	東京大学・医科学研究所・教授 佐伯　泰（さえき　やすし）　研究者番号:80462779
研究課題情報	課題番号：23H05479　研究期間：2023年度～2027年度 キーワード：タンパク質分解、ユビキチン、プロテアソーム、質量分析解析、液－液相分離

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●研究の全体像

ユビキチン・プロテアソーム系（UPS: ubiquitin-proteasome system）は異常なタンパク質や役目を終えた機能タンパク質を選択的に分解することで、タンパク質恒常性（プロテオスタシス）の維持のみならず遺伝子発現、シグナル伝達など様々な細胞機能の制御に必須の役割を果たしている。そのためUPSの異常は、がんや神経変性疾患、老化などを引き起こすと考えられており、現在、プロテアソーム阻害剤やタンパク質分解誘導剤PROTACなどのUPS創薬が世界的に進展している（図1）。これまで代表者は、プロテアソーム基質の選別と輸送を担う仲介分子が細胞内に多数存在すること、細胞はプロテアソームによるタンパク質分解に液－液相分離を利用することを見出してきた。しかし、UPSは約1300種類の制御分子から構成される大規模な生体防御システムであり、UPSの基本的な作動機構と高次での生理機能について我々の理解は十分とはいえず、またUPS創薬のターゲット分子や評価系も限られているのが現状である。そこで本研究では、質量分析解析や生細胞イメージング、変異マウスを用いて、プロテアソーム基質の選別・運搬の時空間的な分子メカニズムとプロテアソーム分解を誘導するユビキチン修飾構造（ユビキチンコード）の全体像を解明し、関連疾患の発症機構解明と創薬基盤の創出を目指す。

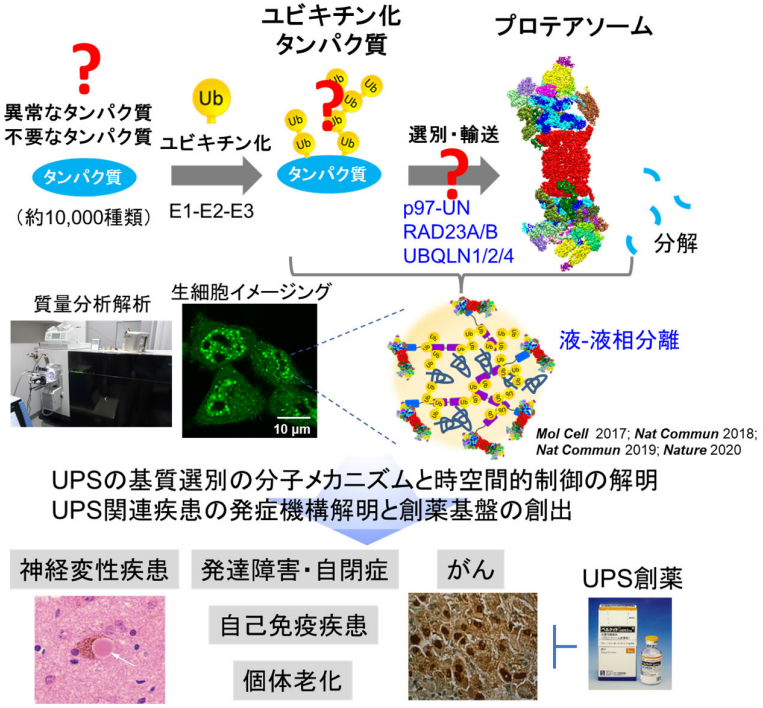

図1　ユビキチン・プロテアソーム系と関連疾患・病態、研究全体のイメージ図

●ユビキチンコード

ユビキチン修飾は多くの場合、ユビキチン鎖を形成して機能する。8種類のユビキチン鎖（M1鎖、K6鎖、K11鎖、K27鎖、K29鎖、K33鎖、K48鎖、K63鎖）が存在し、それぞれが異なる機能をもつため、個々のユビキチン修飾がもつ機能情報はユビキチンコードと称される。特にK48鎖がプロテアソーム依存的なタンパク質分解に関与するが、近年、モノユビキチン化や枝分かれした分岐型ユビキチン鎖などもプロテアソーム分解を誘導することがわかってきたため、細胞内での認識分子を含め統合的な解析が必要となっている。

●プロテアソーム経路のユビキチンデコーダー

個々のユビキチンコードは特異的なユビキチン結合タンパク質（デコーダー）によって解読されることで機能を発現する。プロテアソーム経路では、AAA-ATPaseのp97とそのユビキチン結合コファクター、多様なシャトル分子がプロテアソーム基質の選別と輸送を担うと考えられている（図2）。また、シャトル分子はユビキチン化タンパク質と液－液相分離することで、プロテアソーム液滴の形成を誘導する。これらプロテアソーム経路のユビキチンデコーダーはアルツハイマー病や筋委縮性側索硬化症などの神経変性疾患に関与するが、細胞内で識別するユビキチン修飾や基質タンパク質の特徴はまだ良くわかっていない。

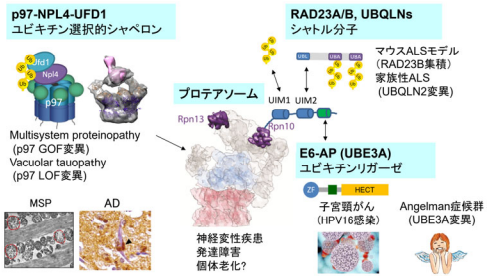

図2　プロテアソーム経路の制御分子群

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

●プロテアソーム基質の選別・輸送の分子メカニズム解明

研究代表者らが見出している計11種類のシャトル分子について、細胞内で相互作用するユビキチン化基質や制御分子を質量分析を用いたプロテオミクス解析によって決定する。また、シャトル分子欠損時に蓄積する基質タンパク質を高深度比較プロテオーム解析により明らかにする。一方、シャトル分子を含有する液－液相分離体や細胞内局在についても解析を進め、どのようなユビキチン化基質がどのシャトル分子によって選別され、プロテアソーム分解が効率的に誘導されるのか、その分子メカニズムを解明する（図3）。

●プロテアソーム分解を誘導するユビキチンコードの全容解明

ユビキチン修飾はタンパク質性の翻訳後修飾であり、細胞内で連結様式や鎖長を制御することは困難である。そこで、連結や鎖長など高次構造を規定したユビキチン化タンパク質を作製し、細胞内にインジェクションすることで、プロテアソーム依存的なタンパク質分解を誘導するユビキチンコードを解明する。特に、未だ不明瞭なユビキチン修飾の機能的なユニットについて明確にする。また、細胞核あるいは細胞質における分解速度の差異やp97要求性、シャトル分子要求性についても解析することで、プロテアソーム分解を駆動するユビキチンコードとデコーダー分子を統合的に理解する。

●プロテアソーム病モデルマウスを用いたUPS関連疾患の発症機構

研究代表者は、プロテアソーム病患者変異をもとに全身性のプロテアソーム機能減弱マウスを作製した（図4）。本マウスは各組織においてプロテアソーム活性が約30%減少しており、発育遅延や痛覚異常、軽度の肝機能低下、小脳プルキンエ細胞の脱落など多面的な表現型を呈する。特にプロテアソーム機能が重要と考えられる脳神経系において組織空間プロテオミクス解析を実施し、シャトル分子の発現やユビキチン化基質の蓄積などを解析することで、プロテアソーム経路の機能を個体レベルで解析する。

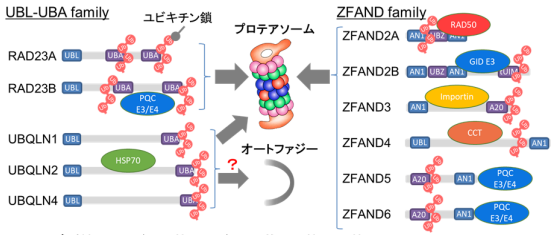

図3　多様なシャトル分子と相互作用分子群

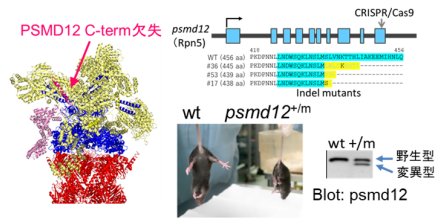

図4　プロテアソーム病モデルマウス

ホームページ等	https://www.cbms.k.u-tokyo.ac.jp/lab/saeki.html https://researchmap.jp/myportal_saeki-ys