

生化学若い研究者の会 第44回夏の学校シンポジウム

タンパク質の分解とフォールディング

オーガナイザー :大澤要介

講師 :岩井 一宏 先生 田中 啓二 先生

中山 敬一 先生 後藤 祐児 先生

(040523 作成版)

講師要旨・講師紹介

ユビキチン修飾系による選択的蛋白質識別メカニズム

～酸化蛋白質の識別機構を中心に～

岩井 一宏 先生

(大阪市立大学大学院医学研究科老年医科学大講座分子制御分野 教授)

ユビキチン修飾系は標的蛋白質を識別してユビキチンを付加することにより、標的蛋白質の機能を制御する翻訳後修飾系である。ユビキチン化された蛋白質のほとんどはプロテアソームによる分解へと導かれるが、近年分解のみならず広く細胞機能制御系として機能していることが示されつつある。ユビキチン系が生体制御において重要な役割を担うのは、E3:ユビキチンリガーゼによる適切な時期に状況に応じた選択的な基質識別に依存する。

鉄はヒトの全ての細胞、ほとんどの生命体に必須な微量元素である。その一方で、鉄は反応性に富んでおり、酸素と反応しフリーラジカルの主たる産生源となるため、その代謝は厳密に制御されている。哺乳類細胞における鉄代謝制御系は鉄代謝に関与する蛋白質であるフェリチンや、トランスフェリン受容体の mRNA の非翻訳領域に存在する IRE (iron responsive element) と、細胞質に存在する IRP (iron regulatory protein) と呼ばれる RNA 結合蛋白質との特異的な結合による。

我々は哺乳細胞における鉄代謝の制御因子である IRP2(iron regulatory protein2)の鉄依存性ユビキチン修飾機構の解析をすすめ、鉄による IRP2 蛋白質の酸化修飾が、選択的なユビキチン修飾のシグナルとなることを示すとともに、酸化修飾を選択的に識別するユビキチンリガーゼ・HOIL-1 を同定し、蛋白質の酸化修飾が識別シグナルとなるユビキチン修飾系の分子メカニズムの一端を示してきた。

本講演では HOIL-1 による IRP2 の選択的識別メカニズムの研究を中心に論じるとともに、HOIL-1 リガーゼの役割についても考察したい。

講師の横顔

1. 略歴

1985年 京都大学医学部卒業後、2年間の市中病院での臨床研修を経て、京都大学医学部第2内科大学院へ進学。1993年から3年間、米国 NIH の Richard D. Klausner 博士の研究室にて鉄代謝の研究に従事し、ユビキチン研究を開始する。京都大学大学院医学研究科、生命科学研究科を経て2001年より現所属：大阪市立大学大学院医学研究科分子制御分野。

2. 研究テーマと抱負

現在、ユビキチンシステムの生物学的機能の解析を中心に研究を進めているが、鉄イオンのバイオロジーのおもしろさを再発見し、その研究も進めている。生物学のみならず化学等異分野のバックグラウンドを持った人たちと、広い見地からサイエンスを見つめ研究を進めたいと考えている。

ユビキチン研究の発展は未解決な生物学的な問題に黙々と取り組んだ先駆者なしにはあり得なかったものであり、自ら未踏の重要な問題を見出し、当初はヒトに顧みられることがなくとも積極的に取り組み、はぐくみ、大樹に育てていけるようなサイエンスを目指している。

3. 趣味

友人たちと酒を交わしながら、色々と語り合うことでしょうか。

4. ご自身の院生、ポスドク時代について（若手へのメッセージも）

まず、自分で行っていることを理解していたかと言ったのが一番でした。何を指してこの実験をするのか理解していないと実験したくありませんでした。また、自分の目の前にあることは淡々とこなしながらも、色々なことに好奇心を持っていて、議論するのが大好きでした。どんなことでも知りたかったし、なぜそうなるのか理解したかったです。そんな調子ですから、自分の仕事がうまくいくことは当然大切でしたが、周りの同僚の仕事も議論していけばおもしろく、その仕事がうまくいけばそれもハッピーでした。

5. 研究者になるために必要なもの

自分で興味を持てるテーマを見つけることが大切だと思います。それも出来れば大きく花開くようなテーマであれば一番だと思います。進みが早くなくても決して腐らず、着実に進めていくことだと思います。そういった仕事ははやりの仕事ではないので、競争相手は決して多くはないですね。そのかわり研究費は取りにくいかもしれないけれど。

ユビキチン代謝系の破綻と神経変性疾患

田中 啓二 先生

(東京都臨床医学総合研究所分子腫瘍学研究部門 部長)

21 世紀の高齢化社会を迎えて急増しつつあるアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患は発症機構が不明な神経難病である。

しかし最近、細胞内蛋白質の代謝異常がこれらの疾病の共通の発症機構とする説が有力になってきつつある。その理由は、患者脳内の病変所見で、細胞質や核内に異常蛋白質が凝集した封入体(レビー小体など)の蓄積が頻りに観察されているからである。蛋白質は誕生から死に至るまでの一生の間に常に異常性を獲得する危険を孕んでいる。それは生合成された蛋白質がフォールディング(折り畳みによる高次構造の形成)やパートナー分子との会合に失敗して不良品になる確率が予想以上に高いこと、そして例えば正常にフォールディングして機能蛋白質になっても様々な環境ストレスによる損傷を受けて部分的に変性(アンフォールディング)し機能不全に陥るからである。

この蛋白質の破綻を阻止するために、細胞には異常蛋白質を修復あるいは破壊してそれらの累積を駆除する装置が準備されている。シャペロンシステムとユビキチン・プロテアソームシステム(UPS)である。分子シャペロンは細胞内蛋白質を手厚く看護してそれらが正常に機能できるように支援する分子群であり、損傷蛋白質の再生装置でもある。他方、もはや修復し難くなった異常蛋白質は UPS の働きで速やかに分解される。このように異常が発生した蛋白質を迅速に検知し適宜に処理するシステム、いわば蛋白質の健康度をモニターする仕組みは「品質管理」と言われている。実際、封入体を形成する多くの蛋白質がユビキチン化されていることから、パーキンソン病などの神経変性疾患が UPS の破綻によって発症する可能性が示唆されている。実際、我々は常染色体劣性若年性パーキンソン病(AR-JP)の原因遺伝子産物 Parkin が RING-finger 型のユビキチン連結酵素(E3)であることを見出した(1)。この発見から AR-JP が UPS の破綻によって発症することが判明した。更に、Parkin の N 末端に存在するユビキチンホモロジドメインが、26S プロテアソームの Rpn10 サブユニットと物理的に会合すること、そしてこの相互作用の破綻によっても AR-JP が発症することを突き止めた(2)。ごく最近我々は Parkin の活性を正負に調節する二つの分子を発見した(論文投稿中)。

このように非分裂細胞であるニューロンにおいては特に UPS による蛋白質の品質管理が細胞の恒常性維持にとって特に重要であると思われる。

また我々は、この「蛋白質の品質管理」機構に関与する2種の新奇「E3」を発見した。シャペロン依存型 E3 である CHIP(3)と N-結合型糖蛋白質を標的とする SCF Fbs1/Fbs2(4-6)である。さらにごく最近、オートファジー(自食作用)・リソソーム系もユビキチン化蛋白質の分解除去に関係しているという事実を見出した(論文投稿中)。

本講演では、これらの知見を踏まえて蛋白質の品質管理の破綻と神経変性疾患の発症機構について考察する。

「文献」

- 1) Shimura, H. et al., Familial Parkinson's disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature Genet.* 25, 302-305 (2000).
- 2) Sakata, E. et al., Parkin binds the Rpn10 subunit of 26S proteasomes with the ubiquitin-like domain. *EMBO Rep.* 4, 301-306 (2003).
- 3) Murata, S. et al., CHIP is a chaperone-dependent E3 ligase that ubiquitylates unfolded protein. *EMBO Rep.* 2, 1133-1138 (2001).
- 4) Yoshida, Y. et al., E3 ubiquitin-ligase that recognizes sugar chains. *Nature* 418, 438-442 (2002).
- 5) Yoshida, Y. et al. Fbs2 is a new member of the E3 ubiquitin ligase family that recognizes sugar chains. *J. Biol. Chem.* 278, 43877-43884, (2003).
- 6) Mizushima, T. et al., Structural basis of sugar-recognizing ubiquitin ligase. *Nature Struct. & Mol. Biol.* 11, 365-370, (2004)

「参考図書」

実験医学（特集号）"次々と解明されるユビキチンの多彩な役割-タンパク質分解から細胞内輸送・局在の制御まで"2003年2月号（企画：田中啓二）

実験医学（臨時増刊号）"タンパク質の修飾・分解の新機能に迫る機構：ユビキチン研究の進展と、プロテオリシスによる細胞機能の新たな制御から疾患のかかわりまで"2004年1月号（企画編集：田中啓二，西道隆臣）

講師の横顔

略歴

生年月日 昭和 24 年 4 月 10 日
昭和 5 1 年 3 月 徳島大学大学院医学研究科博士課程中退
昭和 5 1 年 4 月 徳島大学酵素研究施設 (昭和 6 2 年酵素科学研究センター
に改組)・助手
平成 7 年 6 月 徳島大学酵素科学研究センター・助教授
平成 8 年 4 月 東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所・
分子腫瘍学研究部門 (改組) 部長
平成 1 4 年 1 0 月 東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所・副所長
? 現在 (分子腫瘍学研究部門 部長事務取扱)
昭和 5 6 年 5 月 米国ハーバード大学医学部生理学部門 (現・細胞生理学
? 昭和 5 8 年 3 月 部門) に留学
昭和 5 5 年 医学博士号 : 取得

受賞歴

昭和 6 3 年 「日本生化学会奨励賞」受賞 : プロテアソーム (高分子量
多機能プロテアーゼ複合体) の構造と機能
平成 1 5 年 第 3 5 回「内藤記念科学振興賞」受賞 : プロテアソームの
構造と機能に関する研究

主な科学研究助成金

平成 9 ? 1 3 年 科学技術庁・科学技術振興事業団 : 戦略的基礎研究 (超分
子システムによる免疫識別の分子機構解明) (代表)
平成 1 3 ? 1 7 年 文部科学省・科学研究費 : 特別推進研究 (ユビキチンと
プロテアソームによる蛋白質分解研究) (代表)

所属学会

日本生化学会、日本癌学会、日本分子生物学会、
日本免疫学会、日本蛋白質科学会、日本細胞生物学会

所属研究会

基盤的癌免疫研究会、病態と治療におけるプロテアーゼと
インヒビター研究会、がん分子標的治療研究会、
酵母遺伝学フォーラム、AAA 研究会

Editorial Board Member

Mol Cells (1997?), Eur. J. Immunol. (2001?), J. Biochem (2002?),
Genes to Cells (2004?)

細胞周期と癌と再生と：p27 ブレーキの分解による制御機構

中山 敬一 先生

(九州大学生体防御医学研究所細胞機能制御部門分子発現制御学分野)

成人において細胞周期に入っている細胞は 1%以下の少数の細胞であり、その他大部分の細胞は細胞周期から逸脱して休止状態 (G0 期) にある。幹細胞は細胞周期に再進入する能力を有するが、最終分化を遂げた神経・心筋細胞は、傷害があってもほとんど再生せず、その組織の欠損は生命の危機に直結する。なぜ分化と共に細胞周期への再進入能力が失われるかという謎に対しては、全くわかっていないのが現状である。

休止状態 (G0 期) から細胞周期 (G1 期) への再進入 (G0-G1 移行と呼ぶ) は細胞周期のブレーキ分子 p27 によって妨げられており、これは増殖時に p27 が分解されることによって解除される。p27 の分解はユビキチン・プロテアソーム系によって行われていることがわかっており、その酵素の主体はユビキチンリガーゼ (E3) である SCF/Skp2 であると信じられてきた。しかしながらわれわれの研究結果は、G0-G1 移行期に p27 の分解が SCF/Skp2 で行われているという広く受け入れられている仮説に対して、いくつかの矛盾を生じている。まず Skp2 の発現が p27 の分解よりもはるかに遅いこと (時間的矛盾)、Skp2 が常時核内に存在するのに対し、p27 は核から排出後に細胞質で破壊されること (空間的矛盾)、さらに Skp2 ノックアウトマウスにおいても p27 の G0-G1 移行期における分解は正常に起こること (遺伝学的矛盾) があり、G0-G1 移行期における p27 の分解は Skp2 以外の系によって担われていることが明らかになった。

われわれは G0-G1 移行期における p27 の分解を引き起こすユビキチン化酵素本体の解明を目指してユビキチン化活性を指標に酵素の生化学的精製を行い、新規ユビキチン化酵素 KPC を発見した。KPC は KPC1 と KPC2 からなる複合体であり、KPC1 は C 末端に RING フィンガードメインを有する典型的なユビキチンリガーゼ (E3) である。また KPC2 は UBL-UBA-UBA 型の分子であり、KPC1 とプロテアソームの橋渡しをしている分子であり、ユビキチン化された p27 の効率的な分解輸送に寄与していると思われる。KPC1/KPC2 は予想通り、細胞質に局在した。KPC1/KPC2 の過剰発現では p27 の分解が促進するのに対し、ドミナントネガティブ変異体の発現では p27 の分解が遅延する。また KPC1 の RNAi によって p27 の分解は遅延する。これらの結果は、G0-G1 移行期において p27 がまず核外へ排出され、そこで KPC によるユビキチン化を受けるが、S-G2 期では p27 は核内で Skp2 によるユビキチン化を受けることを示している。

われわれはこの KPC の生物学的な作用を細胞レベル・個体レベルで解析し、その調節機構を明らかにした上で、KPC の活性を促進するような遺伝子治療法または薬剤の探索を行い、細胞周期への再進入を人工的にコントロールする技術を確立することによって、最終的には神経・心筋細胞を、人工的に細胞周期へ再進入させることを目指している。

講師の横顔

メールアドレス

<mailto:nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp>

略歴

学 歴：

昭和 55 年(18 歳)：神奈川県立湘南高等学校 卒業

昭和 55 年(18 歳)：東京医科歯科大学医学部医学科 入学

昭和 61 年(24 歳)：同 卒業

昭和 61 年(24 歳)：順天堂大学大学院医学研究科 入学

平成 2 年(28 歳)：同 卒業

職 歴：

平成 2 年(28 歳)：ワシントン大学ハワードヒューズ研究所 博士研究員

平成 7 年(33 歳)：日本ロシュ研究所生物学部 主幹研究員

平成 8 年(34 歳)：九州大学生体防御医学研究所細胞学部門 教授

現在に至る

研究テーマと抱負

細胞周期をユビキチン化依存性タンパク質分解から理解しようとしています。特に方法論として、発生工学（マウスにおける遺伝子改変）とプロテオミクスを中心に研究を進めています。細胞周期というと、専ら癌との関係がクローズアップされていますが、最近は神経再生の研究に興味を持っています。

趣味

最近家内が旦那を見限って仙台に行ってしまった(!)ので、一人で料理を作っていますが、これが面白い! 実験と似ているところがありますが、最後に食えるという点がいいですね。研究者にはオススメです。

御自身の院生、ポスドク時代について（若手へのメッセージも）

う? ん、これを書き始めると非常に長くなってしまいますので、すみませんが私の HP を読んで下さい。

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/saibou/index.html>

研究者になるために必要なものは?

これもいろいろ長々と HP に書いてあります。

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/saibou/index.html>

