

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 31 年 4 月 22 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 愛媛大学・プロテオサイエンスセンター
 職 名 講師
 研究代表者名 高橋 宏隆

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 301005)

1. 共同利用研究 課題名	ユビキチンシグナルを介した新規 NF-κB 依存アポトーシス制御機構の解明		
2. 共同利用研究 目的	申請者が同定した新規ユビキチン結合タンパク質の中で、NF-κB 依存アポトーシス制御に関わるものを同定し、その生理学的意義を明らかにする。		
3. 共同利用研究 期間	平成 30 年 4 月 1 日 ~ 平成 31 年 3 月 31 日		
4. 共同利用研究組織			
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 高橋 宏隆	愛媛大学 プロテオサイエンスセンター	講師	研究立案・実験全般
(分担研究者) 澤崎 達也 山中 聡士 長尾 和哉	愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 同上 同上	教授 大学院生 大学院生	研究立案 細胞実験 <i>in vitro</i> 実験および細胞実験
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	細胞増殖分化制御研究 分野	氏 名 鎌田 真司 教授

※ 次の6~9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6~9の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 301005)

6. 共同利用研究計画

直鎖状ユビキチン鎖は、NF- κ B 活性を亢進する重要な因子として注目されている。この経路においては、直鎖状ユビキチン鎖に結合するタンパク質を介してシグナル伝達複合体が形成され、シグナルが下流へと伝達される。これまでに直鎖状ユビキチン鎖に結合する A20 や NEMO が、NF- κ B 活性を制御する重要な因子として報告されているが、細胞内にはまだ多くの未知な直鎖状ユビキチン鎖結合タンパク質が存在する可能性が高い。先行研究において、我々はコムギ無細胞タンパク質合成系を基盤とした網羅的な生化学的解析により、ヒトのゲノムコードされているタンパク質の約7割をカバーした二万種類タンパク質アレイより、直鎖状ユビキチン結合タンパク質候補を多数同定している。しかし、これらのタンパク質がどのような生理的機能を持っているかは不明である。そこで、アポトーシスやその他の細胞死研究専門とされている鎌田 真司 教授との共同研究において、候補タンパク質の細胞生物学的なアプローチによる機能解析から、細胞生存または細胞死に関わる因子を同定し、それらの生理学的意義を明らかとする。

7. 共同利用研究の成果

本研究では、二万種類タンパク質アレイより同定された 50 種類を超える直鎖状ユビキチン結合タンパク質のうち、共通の Zn フィンガーモチーフを有するファミリー(以下、ZnUBP とする)に着目し、研究を進めた。ヒトにおける ZnUBP は 7 つのタンパク質から構成されている。本研究において、この7つの ZnUBP を培養細胞で高発現させちゃところ、ZnUBP6, 7 の2種において、NF- κ B 経路の顕著な抑制効果が認められた。この2つの ZnUBP タンパク質はドメイン構造が非常に類似しており、ファミリーに共通する Zn フィンガーとは別に、A20 型の Zn フィンガーを有することや、直鎖状ユビキチン鎖に対して非常に高い結合性を示すことが明らかとなった。しかし、同じく A20 型 Zn フィンガーを有する ZnUBP4 は細胞内における NF- κ B 抑制能が認められず、また直鎖状ユビキチン鎖との結合性も非常に低い。以上のことから、ZnUBP6, 7 は直鎖状ユビキチン鎖への結合を介して NF- κ B の活性を抑制している可能性が強く示唆された。

今後、ZnUBP6, 7 が発現する細胞を用いて、直鎖状ユビキチン鎖への結合を介した NF- κ B 抑制の詳細なメカニズムや、アポトーシス誘導への影響、さらには生理学的意義を調べて行く予定である。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

長尾和也、高橋宏隆、及川大輔、徳永文稔、澤崎達也、コムギ無細胞ヒト 20,000 種プロテインアレイ技術を基盤とした新規直鎖状ポリユビキチン鎖結合タンパク質の探索とその機能解析、第13回無細胞生命科学研究会、2018年10月26日

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

日本学術振興会 科研費・新学術領域研究(公募研究, H31-32)、USP ファミリーの脱ユビキチン化酵素を特異的に阻害する低分子化合物の開発、研究代表者 高橋宏隆