

平成 30 年 3 月 14 日

1) 研究代表者

氏名：村田茂穂

所属・職位：東京大学大学院薬学系研究科・教授

2) 共同利用または共同研究の項目

共同利用A-3. プロテオーム解析

3) 研究題目

プロテアソームによる基質選別機構とその生理的意義の解明

4) 研究所担当教員

小迫英尊 教授

5) 研究目的

プロテアソームがユビキチン化されたタンパク質を選択的に分解することの個別の事例と生理的重要性はこれまで多数研究されてきた。その結果、「ユビキチン化=プロテアソームによる分解」という単純化されすぎた理解にとどまっており、プロテアソームによる分解過程における選択性についてはほとんど分かっていない。ユビキチン化タンパク質をプロテアソームに運搬するシャトル因子およびユビキチン鎖を受容するプロテアソームサブユニットが複数存在し、しかも各因子・サブユニットの遺伝子欠損が各々異なる表現型を示すこと、ユビキチン鎖受容体Rpn13はがん細胞で高発現すること、シャトル因子Ubiquilin2は筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子であることなど、プロテアソームによる分解過程における基質選択性が生理・病態に強く関与することが示唆されている。また、プロテアソームはPI31、PA28、PA200など様々な制御因子と協働することによりユビキチン非依存的にタンパク質を分解できることが知られるが、その生理的意義は過小評価されている。本共同利用での網羅的・定量的プロテオミクス解析によりプロテアソームによる基質選別機構とその生理的意義を解明することを目的とする。

6) 研究成果

1. プロテオーム解析によるプロテアソーム会合因子PI31の機能解析

プロテアソーム会合因子PI31 (proteasome inhibitor 31-kDa)は発見当初はin vitroにおけるプロテアソーム機能阻害因子として同定されたが、我々が行ったショウジョウバエやマウスを用いた遺伝学的解析の結果からは、むしろプロテアソームによる何らかのタンパク質分解を促進することにより、生存に必須な役割を果たすプロテアソーム活性化因子であることが示唆された。PI31発現低下マウスが雄性不妊を示すことから、このマウスの精子と野生型マウス精子のプロテオーム解析を、TMTラベルによる質量分析により実施した。その結果、PI31発現低下マウス特異的に顕著に蓄積するタンパク質を複数同定することが出来た。この結果はさらに精密定量により確認することが出来た。この結果から、PI31は精子においてこれらの因子の分解を促進することにより精子成熟を促進していることが示唆された。

2. プロテアソーム機能低下時のプロテオーム解析

プロテアソーム機能低下は細胞老化（細胞増殖の不可逆的停止）の直接的な原因となりうることが酵母からヒトにいたる様々な真核生物において示唆されている。我々は出芽酵母の遺伝学を用いて、プロテアソーム機能低下時の細胞増殖抑制に、特定のリン酸化タンパク質の蓄積が関与することを突き止めた。このタンパク質を特定するために、出芽酵母株を用いてリン酸化プロテオーム解析を実施した。その結果、関与が疑われる複数のリン酸化タンパク質の同定に成功した。現在、これらのタンパク質のリン酸化が実際にプロテアソーム機能低下時の細胞増殖抑制に寄与しているのかを遺伝学的解析により検討中である。