

1) 申請者の氏名・所属・職位

松田憲之・東京都医学総合研究所 ユビキチンプロジェクト・プロジェクトリーダー

2) 共同利用または共同研究の項目（共同利用A1～A4；共同研究B1～B17）

共同研究B-5. 細胞情報学分野（担当：小迫英尊博士）

3) 共同利用または共同研究の題目

ユビキチンの新たなリン酸化修飾の検討

4) 共同利用または共同研究の組織

研究代表者：松田憲之（東京都医学総合研究所・ユビキチンプロジェクト）

研究分担者：松田（今井）典子（日本学術振興会 RPD）

共同研究者：小迫英尊（徳島大学先端酵素学研究所・細胞情報学分野）

5) 共同利用または共同研究の成果

申請者（松田憲之）および共同研究者（小迫英尊博士）は、膜電位の低下したミトコンドリアの品質管理において PINK1 キナーゼが触媒するユビキチンのリン酸化が決定的な役割を果たしていること、その破綻が遺伝性劣性パーキンソン病の発症に繋がることを明らかにしてきた。しかしながら PINK1 による Ser65 のリン酸化修飾以外にも、生体内でユビキチンが翻訳後修飾を受けている可能性は十分にある。

最近、研究代表者（松田憲之）と研究分担者（松田-今井典子）は、ウイルス感染細胞においてユビキチンが未知のリン酸化修飾を受けている可能性を示唆する preliminary data を得た。そこで、ウイルス感染細胞より修飾を受けている・あるいは修飾を受けていないユビキチンを精製し、共同研究者である小迫博士にお送りして、質量分析法を駆使した解析を行なっていただいた。

小迫博士はサンプルをメタノール・クロロホルム沈殿後に over night でトリプシン処理を行い、さらにチタニア (TiO₂) でリン酸化ペプチドを精製後に脱塩して LC-MS/MS 解析を行なった。その結果、Ser20 と Ser57 の2ヶ所が putative なリン酸化修飾候補部位として同定された（次頁：図1）。このシグナルは修飾を受けているユビキチンサンプルに特異的であった。

ごく最近、ユビキチンの Ser57 のリン酸化が後期エンドソームにおける多胞体（マルチベシキュラーボディ）への取り込みを制御していることが報告されており (Elife 2017)、ウイルスの出芽と多胞体（マルチベシキュラーボディ）形成に多くの共通点が存在することを勘案すると、非常に興味深い。一方、ユビキチンの Ser20 のリン酸化は前例のない新規の報告である。

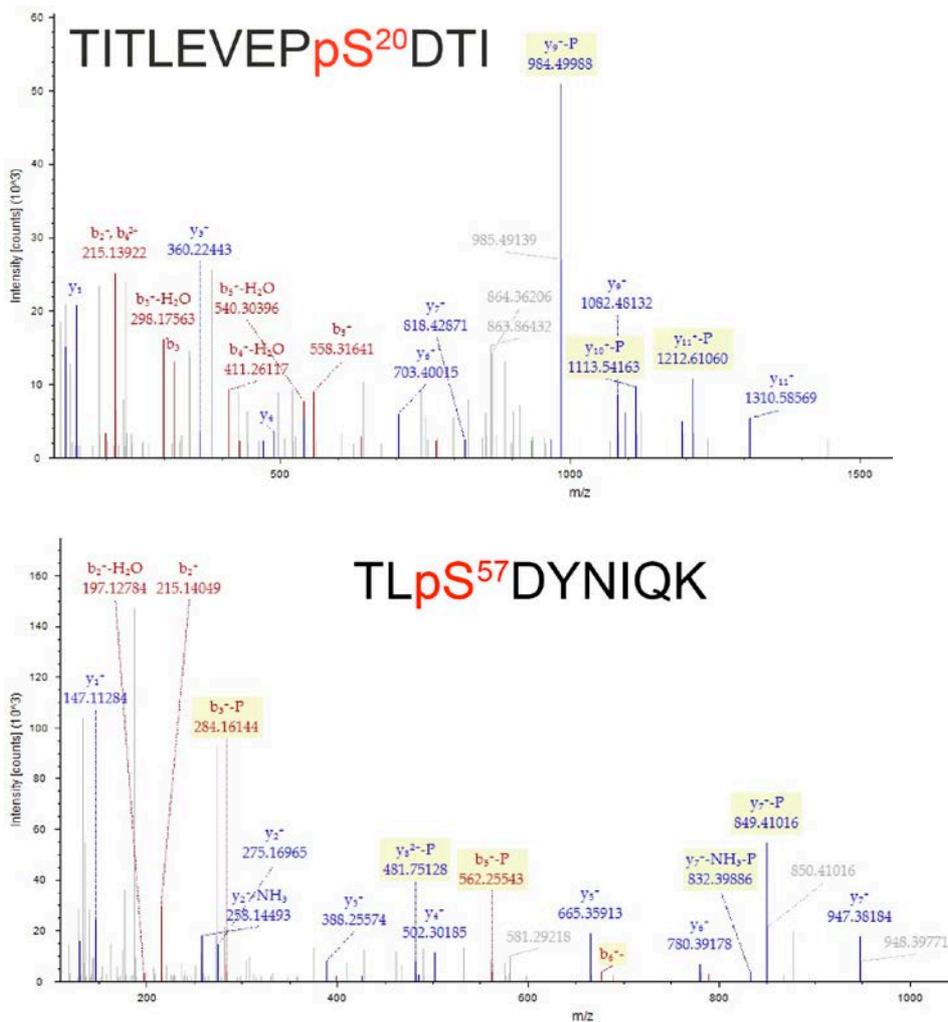


図 1. ユビキチンのSer20及びSer57のリン酸化を示すMS/MSスペクトル

一方で、検証実験として「ユビキチンの Ser20 や Ser57 に変異を導入することで、ウイルス感染細胞における修飾が消失するかどうか」を調べているが、そもそも外から導入したユビキチンが修飾を受けないようで、実験系の設定に苦労している。今後は実験条件を確立し、ウイルス感染細胞から調製したユビキチンが Ser20/57 のリン酸化修飾を受けている可能性についてさらに検討する予定である。

6) 論文

なし (準備中)