

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 27 年 4 月 27 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 愛媛大学プロテオサイエンスセンター
職 名 教授
研究代表者 澤崎 達也

下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号: 13016)

1. 共同研究課題名	コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた網羅的ユビキチン化解析			
2. 共同研究目的	代謝シグナルに関与するユビキチンリガーゼの同定と生物学的役割の解明を目指す。			
3. 共同研究期間	平成 26 年 4 月 1 日 ~ 平成 27 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 澤崎 達也	愛媛大学プロテオサイエ ンスセンター	教授	研究立案	
(分担研究者) 竹田 浩之 高橋 宏隆 上松 篤史	愛媛大学プロテオサイエ ンスセンター	助教 助教 大学院生	スクリーニング実験 細胞生物学的実験 細胞生物学的実験	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	分子細胞制御分野	氏 名	徳永 文稔

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 13016)

6. 共同研究計画

CYLD を負に制御する E3 リガーゼについて、IKK-NEMO 複合体や LUBAC 複合体との相互作用解析を行う。また、新規 E3 リガーゼによる CYLD の分解が、TNF- α などの様々な刺激によって制御されているかを調べ、CYLD ユビキチン化の生理的な意味と NF- κ B 経路における役割を明らかにする。また、既に同定されている LKB1 の分解を誘導するユビキチンリガーゼの候補について、細胞生物学的手法によりその生理学的機能の解明を目指す。

また直鎖型ポリユビキチン鎖と我々が保有しているタンパク質ライブラリとの *in vitro* における網羅的な相互作用解析を行い、ポリユビキチン鎖と結合するタンパク質候補を複数同定している。そこで、これらの候補タンパク質について細胞生物学的な解析により細胞内での機能を明かとする

7. 共同研究の成果

25 年度より引き続き CYLD のユビキチン化、分解を促す新規 E3 リガーゼの詳細な機能解析を進め、この E3 リガーゼの NF- κ B 制御機構のより詳細なメカニズムが明らかとなった。また、癌抑制タンパク質である CYLD を分解する E リガーゼはがん化の一因になっている可能性が強く示唆された。そこでこの E3 リガーゼを高発現させた NIH3T3 細胞をマウスに移植し Xenograft assay を行った結果、この E3 リガーゼによってがん化が顕著に促進される結果が得られた。これらのことから、本共同研究で同定された E3 リガーゼは、新規な癌原因タンパク質であると考えられ、抗がん剤の新たなターゲットとして期待される。現在、これらの結果を論文にまとめている。

また、これまでに数百種類の発現タンパク質を用いて、ポリユビキチン鎖に相互作用する新規タンパク質の同定を行っているが、徳永先生との共同研究により、ヒト全ゲノムを対象とした 20,000 種類タンパク質についてポリユビキチン鎖との結合能をハイスループットに検出するスクリーニング系の構築に成功した。現在、実際にスクリーニングを行う準備を進めており、今年度中の実施が期待される。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

<国際学会>

1. ○Takahashi H, Uematsu A, Takeda H, Tokunaga F and Sawasaki T. CUBL1, an E3 ligase responsible for deubiquitination enzyme CYLD regulates IFN signal transduction. *iral Immunity, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology* (11-16th January 2015, Beaver Run Resort, Breckenridge, Colorado, USA).

<国内学会>

1. ○高橋 宏隆, 中島 達朗, 竹田 浩之, 傳田 美和子, 森下 了, 徳永 文稔, 澤崎 達也, コムギ無細胞タンパク質アレイ技術を用いた、新規ユビキチン結合タンパク質の網羅的探索法の開発. 第37回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 11月25-27日, 2014年
2. ○高橋 宏隆, 上松 篤史, 竹田 浩之, 徳永 文稔, 澤崎 達也 (2014) **脱ユビキチン化酵素CYLDの責任E3リガーゼCUBL1はインターフェロニンシグナル伝達を制御する**. 第87回日本生化学会大会, 10月15-18日, 国立京都国際会館 (口頭およびポスター発表、Late-breaking Abstracts)
3. ○中島 達朗, 高橋 宏隆, 徳永 文稔, 竹田 浩之, 澤崎達也, コムギ無細胞タンパク質アレイを基盤とした直鎖およびK63ポリユビキチン鎖に結合するタンパク質の探索. 第87回日本生化学会大会, 10月15-18日, 国立京都国際会館
4. ○土居 耕介, 高橋 宏隆, 後藤 栄治, 徳永 文稔, 澤崎 達也, コムギ無細胞系を基盤とした脱ユビキチン化酵素プロテインアレイの構築. 第87回日本生化学会大会, 10月15-18日, 国立京都国際会館
5. ○高橋 宏隆, 中島 達朗, 傳田 美和子, 森下 了, 徳永 文稔, 澤崎 達也 (2014) コムギ無細胞タンパク質アレイ技術を用いた、新規ポリユビキチン鎖結合タンパク質の網羅的探索法の開発. 第9回無細胞生命科学研究会, 10月8-9日, 大阪大学医学部 銀杏会館