

50 タンパク質分解による代謝制御機構の解明

中務 邦雄

ユビキチン・プロテアソーム系は特異的なタンパク質の分解系であり、細胞周期、癌、品質管理など、様々な細胞機能の制御に関わっている。興味深いことに、過去 5~10 年の間に、ユビキチン・プロテアソーム系が代謝経路の様々なステップを制御することが明らかになってきた。しかしながら、ユビキチン・プロテアソーム系による代謝制御の研究は散発的であり、これまでに系統的に調べられた例はなかった。代謝の新しい制御機構を明らかにできれば、ヒトでは疾患の予防と克服を目的とした医学分野への貢献が期待され、微生物では有用物質の生産を目指した代謝工学への貢献が期待される。本研究では、出芽酵母をモデルに、ユビキチン・プロテアソーム分解系によって制御される代謝酵素と、その分解に関わるユビキチンリガーゼを同定し、分解のメカニズムと生理的意義の解明を目的とした。

出芽酵母データベースから、「ユビキチン修飾」、「短寿命」、「高等動物との保存性」、「細胞内局在」などを指標に、分解制御を受ける可能性が高い代謝酵素を選び出した。次に、それぞれの代謝酵素に内在性のエピトープタグを付加して、シクロヘキシミドチェイス法によって安定性を実験的に検証することで、候補タンパク質を絞り込んだ。エピトープタグの付加は、細胞内のタンパク質を簡便に検出する手段ではあるが、タンパク質の安定性に影響を与えることがある。そこで最終確認として、特異的抗体（ウサギポリクローナル抗体）を網羅的に作製して、内在性タンパク質の安定性を調べた。本研究期間内に、p103、p85、p42、p43 の解析を行った。このうち、エピトープタグを付加していない内在性の p103 は予想に反して安定であることが明らかになったが、Cdc14 による脱リン酸化の制御を受けることが分かった。内在性の p85 は SCF ユビキチンリガーゼによる分解制御を受けることが明らかになった。また、p42 と p43 はほとんど分解されない安定なタンパク質であるにも関わらず、ユビキチン修飾を受けることが明らかとなった。p42 と p43 は細胞内の存在量が多く機能も明らかなので、分解をとまなわないユビキチン修飾の役割を解析するうえで、有用なモデルタンパク質となることが期待された。

ユビキチン・プロテアソーム分解系によって制御される代謝酵素の探索

