

44 プロテアソーム分解ネットワークの解明	佐伯 泰
---------------------------------	-------------

【目的】 プロテアソームは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で、様々な細胞機能の制御に必須の役割を果たしている。従来、プロテアソーム基質はユビキチン化されれば一義的に分解されると考えられてきたが、最近ではプロテアソームと相互作用する様々なアクセサリータンパク質が同定され、基質タンパク質の運搬・認識・分解の各ステップを厳密に調節していることが明らかになってきた。本研究は、我々が見出したプロテアソーム核内 foci を材料に、アクセサリー分子の機能連携と階層性を明らかにすることを目的とする。

【方法】 プロテアソームの生細胞イメージング解析のため、プロテアソームサブユニット遺伝子に蛍光タンパク質をノックインしたプロテアソーム可視化ヒト培養細胞を作製した。次いで、様々なストレス存在下でプロテアソームの局在変化を解析するとともに、プロテアソームと相互作用するアクセサリー分子を質量分析により解析した。同定されたアクセサリー分子の siRNA のノックダウンまたは遺伝子破壊、あるいは特異的阻害剤を用いてプロテアソーム依存的タンパク質分解に与える影響を解析した。

【結果】 生細胞イメージングに適したプロテアソーム可視化細胞の作出に成功した。さまざまなストレス下でプロテアソーム局在変化を解析したところ、高浸透圧ストレス刺激によりプロテアソームがユビキチン化基質とともに核質で foci を形成することを見出した。この foci は一過的な構造体であり数時間後には消失するが、プロテアソーム阻害剤処理により安定化したため、核内のタンパク質分解の場を可視化していることが示唆された。質量分析解析の結果、このプロテアソーム foci に局在化するアクセサリー分子としてユビキチン選択的シャペロン p97、シャトル分子 RAD23B、ユビキチンリガーゼ UBE3A を同定した。RAD23B と UBE3A はプロテアソーム foci の形成に、p97 はプロテアソーム foci のクリアランスに寄与することがわかった。興味深いことにプロテアソーム foci は液滴様の性質をもち、まず RAD23B がユビキチン鎖と液-液相分離することで液滴を形成し、プロテアソームを集積させることがわかった。本研究により、核内のタンパク質品質管理経路とアクセサリー分子による分解ネットワークの存在が明らかとなった。

プロテアソーム foci は核内タンパク質品質管理の場である

