T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	脱ユビキチン化酵素の分子種特異的な基質認識機構と小胞輸送制御における新機能
Title(English)	
著者(和文)	川口紘平
Author(English)	Kohei Kawaguchi
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10741号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:加藤 明,岩﨑 博史,太田 啓之,中戸川 仁,中村 信大
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10741号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第　　号		学位申請者氏名	川口 紘平	
論文審査 審 査 員		氏　名	職　名	氏　名	職　名
	主査	加藤　明	准教授	中村　信大	准教授
	審査員	岩崎　博史	教授		
		太田　啓之	教授		
		中戸川　仁	准教授		

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「脱ユビキチン化酵素の分子種特異的な基質認識機構と小胞輸送制御における新機能」と題し、動物細胞内に存在する脱ユビキチン化酵素の作用機序や細胞内における機能の解明を目指し、２つの脱ユビキチン化酵素 USP25 と USP8 について解析した論文であり、四章から構成されている。

「序章」では、まず、ユビキチン化修飾について概説している。具体的には、標的タンパク質のリジン残基にユビキチンが共有結合し、さらにユビキチンに存在する 7 つのリジンと N 末端メチオニンに対して別のユビキチンが結合することで 8 種類の連結型のユビキチン鎖が作られることを述べている。続いて、このユビキチン鎖を認識するユビキチン結合タンパク質を含むマシナリーが働いて、異なる連結型のユビキチン鎖が異なる機能（標的タンパク質の分解、輸送、複合体形成の制御など）を発揮することを説明している。次に、ユビキチン化修飾は可逆的であり、脱ユビキチン化酵素が基質タンパク質からユビキチンを取り外すことを述べている。そして、ユビキチン化を引き起こすユビキチンリガーゼは細胞内で 500-1000 種類存在するのに対して脱ユビキチン化酵素は約 90 種類しか存在しないこと、個々の脱ユビキチン化酵素のノックアウト細胞/マウスは重篤な表現型を示すことが多いことから、一つの種類の脱ユビキチン化酵素が多様かつ分子種特異的な基質を認識するという考えを説明している。最後に、多くの脱ユビキチン化酵素は細胞内での作用機序や役割が明らかとなっておらず、特異的な基質の同定、基質認識機構の解明が急務であると述べている。

第 1 章「USP25 の基質認識機構」では、USP ファミリーの脱ユビキチン化酵素の一つ USP25 が基質タンパク質を認識する分子機構について、生化学及び分子細胞生物学的な手法により、詳細に解析している。USP25 には酵素活性ドメインに加えて、ユビキチンに結合しうるドメイン・モチーフである UBA (ubiquitin-associated) ドメインと 2 つの UIM (ubiquitin-interacting motif) が隣り合って存在しているが、2 つの UIM が協調して働くことで Lys48 連結型ユビキチン鎖に選択的に結合することを明らかにしている。次に、USP25 は Lys63 連結型よりも Lys48 連結型ポリユビキチン鎖に高いイソペプチダーゼ活性を持つことを見出し、さらに、UIM に変異を導入して Lys63 連結型に結合するように改変した USP25 のイソペプチダーゼ活性を調べ、UIM 領域のユビキチン鎖結合選択性がユビキチン鎖の選択的分解を可能にしているという結論に至っている。まとめとして、本研究は、Lys48 連結型ユビキチン鎖に対して選択的に結合するユビキチン結合モチーフが、脱ユビキチン化酵素に Lys48 連結型ユビキチン鎖を選択的に分解する能力を与えていることを示す初めての報告であると述べている。

第 2 章「USP8 の基質認識と小胞輸送における新機能」では、他のユビキチン結合タンパク質と相互作用することにより基質認識を行う脱ユビキチン化酵素の一つ USP8 に着目し、新規基質を同定し、新たな細胞内機能を解明している。USP8 は EGF 受容体を脱ユビキチン化してこのエンドサイトーシスを制御することが知られているが、USP8 の新規基質を同定するために USP8 の基質認識に重要な STAM1 の結合タンパク質を調べ、COPII コートタンパク質 Sec31A を見出している。一般に COPII コートタンパク質は、小胞体で合成された分泌タンパク質を小胞体から搬出するための小胞（COPII 小胞）を形成する役割を果たす。巨大タンパク質コラーゲンの分泌には COPII コートの Sec31 のモノユ

ビキチン化による巨大 COPII 小胞の形成が必要であるが、Sec31 の脱ユビキチン化酵素の重要性は解明されていない。実験から、USP8 は STAM1 を介して Sec31A を基質として認識してこれを脱ユビキチン化すること、ユビキチンリガーゼ CUL3-KLHL12 によって形成される巨大 COPII 小胞の形成を阻害すること、及びコラーゲンの ER からゴルジ体への輸送を抑制することを示している。他の結果も併せ、USP8 は EGF 受容体を認識する時とは異なる分子機構を介して Sec31A を基質として認識してこれを脱ユビキチン化することにより巨大 COPII 小胞の形成を抑制し、コラーゲンなどのサイズの大きな積み荷タンパク質の細胞外への分泌を抑制する新機能を持つと結論している。

「総合討論」では、本研究で得られた結果と、他の脱ユビキチン化酵素についてのこれまでの知見を総合して討論している。まず、脱ユビキチン化酵素は分子内ドメインや相互作用タンパク質を介して基質タンパク質とそこに付加されたユビキチン鎖を複合的に認識する、もしくは一部の脱ユビキチン化酵素は特定の細胞内部位に局在する、などのメカニズムによって、多様かつ分子種特異的な基質を認識できるようになっていると説明している。また、今回明らかとなった分泌小胞形成における脱ユビキチン化酵素の新機能について、エンドサイトーシスやオートファジーなどの際の細胞内小胞やオルガネラの形成における脱ユビキチン化酵素の機能と比較し、特殊性と普遍性を議論している。

以上を要するに、本論文は、脱ユビキチン化酵素が分子内ドメインや相互作用タンパク質を介して基質タンパク質を認識し、それによってどの標的タンパク質のどの連結型のユビキチン鎖を分解するかが緻密に制御されていること、さらに、脱ユビキチン化酵素がこれまで知られていた標的タンパク質の分解やエンドサイトーシスの制御以外に分泌小胞の形成を制御するという新しい役割を果たしていることを明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。