

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Deubiquitinases USP5 and USP13 are recruited to and regulate heat-induced stress granules by deubiquitinating activities
著者(和文)	Xie Xuan
Author(English)	Xuan Xie
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10909号, 授与年月日:2018年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:加藤 明,太田 啓之,岩崎 博史,中村 信大,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10909号, Conferred date:2018/6/30, 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

(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	Xie Xuan		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	加藤 明	准教授		中戸川 仁	准教授
	審査員	太田 啓之	教授	審査員		
		岩崎 博史	教授			
		中村 信大	准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Deubiquitinases USP5 and USP13 are recruited to and regulate heat-induced stress granules by deubiquitinating activities」と題し、真核細胞の細胞質中に出来る mRNA-タンパク質複合体 (mRNP) に富む顆粒、いわゆるストレス顆粒 (以下 SG と記す) の形成と消失の分子機構の解明を目指し、SG に含まれるユビキチンと脱ユビキチン化酵素の局在制御と機能について解析した論文であり、序論、材料と方法、結果、考察の 4 章から構成されている。

「序論」では SG について概説している。それによると、細胞が熱、酸化ストレス、低酸素などのストレスを受けると mRNA の翻訳が全般的に停止し、翻訳停止中の mRNP が互いに相互作用して SG が形成されること、また SG はストレスを受けた細胞が翻訳停止中の mRNP を一時的に貯蔵する場であり、ストレスが解消すると SG は消失し、含まれていた mRNP は再び翻訳に利用されることなどを述べている。SG は細胞がストレスに応答するために重要な様々な反応が行われる場でもあり、SG の形成異常は種々の疾患を引き起こす原因になる。SG の形成や消失を調節する分子機構には不明点が多いが、SG にはユビキチンが含まれる場合があり、このユビキチンの量制御機構を解明し SG 中のユビキチンが SG の形成や消失に果たす役割を解明することが本研究の目的であるとしている。

「材料と方法」では研究対象としてヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞を用い、生化学及び分子細胞生物学的手法により解析を行っていることなどを記している。

「結果」では、冒頭で、種々の脱ユビキチン化酵素の局在解析の過程で ubiquitin specific protease 5 (USP5) と USP13 が熱誘導性 SG に局在することを発見したことについて述べている。USP5 と USP13 は同じドメイン構造を有するが、USP5 は遊離ユビキチン鎖に対する脱ユビキチン化活性を示す一方、USP13 は基質タンパク質に結合したユビキチン鎖に対する脱ユビキチン化活性を示すことが知られている。SG は様々な刺激により誘導されることから、USP5、USP13、ユビキチン鎖がどのような種類のストレスによって誘導される SG に局在するかについて共焦点顕微鏡を用いて調べ、これらのタンパク質は熱誘導性 SG に局在するが、酸化ストレス誘導剤ヒ素、プロテアソーム阻害剤 MG132、ミトコンドリア脱共役剤 CCCP などによって誘導される SG には局在しないことを示している。これらのタンパク質の熱誘導性 SG への局在については超解像顕微鏡を用いてより詳細な解析を行い、SG 内部で一部の USP5 と USP13 がユビキチン鎖と共局在していることを示している。さらに、核外移行阻害剤レプトマイシン B を用いた解析から熱誘導性 SG に含まれる USP5 と USP13 の一部は核内から移行してきていること、USP13 のドメイン欠損変異体を用いた解析から USP ドメイン自体が熱誘導性 SG に

移行する能力を有していることなどを示している。次に、siRNA 法を用いた USP5 や USP13 の発現抑制が熱誘導性 SG の動態に及ぼす影響を解析し、USP5 と USP13 の両方が熱誘導性 SG に含まれるユビキチン鎖を減少する役割、SG の形成を遅延する役割、熱ストレスを取り除いた後の SG の消失を促進する役割を果たしていることを示している。また、USP5 もしくは USP13 を発現抑制した細胞に野生型または酵素活性欠失型の USP5 や USP13 を再発現する実験を行い、USP5 や USP13 は酵素活性依存的に SG の消失を促進することを示している。USP5 が遊離ユビキチン鎖を分解することが知られるため、C 末端の 2 つのグリシン残基をアラニンに置換した変異型ユビキチンを発現させることによって細胞内に遊離ユビキチン鎖を過剰に形成させたところ、熱誘導性 SG の消失が遅延することがわかり、USP5 は遊離ユビキチン鎖を分解することによって SG の消失を促進していると結論している。

「考察」では、まず、熱ストレスでは翻訳が停止するとともに大量のタンパク質がミスフォールドしてユビキチン化を受けるようになること、さらに、熱ストレス下ではユビキチン鎖自体が凝集体を形成する性質があることを紹介し、これらが原因となってユビキチン鎖が熱誘導性 SG に蓄積する可能性があることと述べている。次に、USP5 と USP13 が熱誘導性 SG に局在する機構について、この SG に蓄積しているユビキチン鎖とこれらの脱ユビキチン化酵素の USP ドメインの相互作用によってこれらの局在が可能になっているという考えを述べている。最後に、SG に存在する USP5 と USP13 の役割について、USP5 は SG に存在する遊離ユビキチン鎖を分解し、一方、USP13 は SG に存在する未同定の基質タンパク質に結合しているユビキチン鎖を分解し、これらの両方の反応が進むことによって SG が不安定化、SG の形成が遅延し乖離・消失が促進すると説明している。ユビキチン鎖の分解が SG を不安定化する仕組みとしては、熱凝集性をもつユビキチン鎖の量を USP5 と USP13 が減少させることによって SG 内の凝集性タンパク質が少なくなり SG が不安定化する、遊離ユビキチン鎖が減少することによって遊離ユビキチン鎖依存的なミスフォールドタンパク質の SG への輸送が抑制されるという二つの仮説を挙げている。最後に、SG の形成と消失の異常は種々の神経変性疾患の一因となることを紹介し、本研究の成果は細胞生物学のみならず医学的にも重要であると述べている。

以上を要するに、本論文は、熱誘導性 SG にはユビキチン鎖と USP5 および USP13 が含まれることを見出し、このユビキチン鎖、USP5、USP13 の SG への局在機構の一部を解明し、さらに、SG 内において USP5 と USP13 はユビキチン鎖を分解することにより SG を不安定化する役割を果たすことを明らかにしたものであり、理學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。