

不要なタンパク質が分解を受ける前に解きほぐされる仕組み

発表者：

深井 周也（東京大学定量生命科学研究所 准教授）

佐伯 泰（東京都医学総合研究所 副参事研究員）

発表のポイント：

- ◆Cdc48（注1）の2つの補因子、Ufd1 と Npl4 が結合する分子機構を明らかにしました。
- ◆Npl4 が Lys48 でつながったユビキチン鎖（注2）を認識する分子機構を明らかにしました。
- ◆本成果は、Cdc48-Ufd1-Npl4 複合体が形成される分子機構、および標的タンパク質を認識する分子機構を明らかにしたもので、細胞のがん化や神経変性疾患を抑えるための基盤となる知見になると期待されます。

発表概要：

東京大学定量生命科学研究所（白髭克彦所長）の深井周也准教授と東京都医学総合研究所（田中啓二理事長）の佐伯泰副参事研究員の共同研究グループは、不要なタンパク質や異常タンパク質を解きほぐす酵素である Cdc48 の、2つの補因子 Ufd1 と Npl4 が結合する仕組みと、Npl4 がユビキチン鎖を認識する方法を明らかにしました。これまでの研究により、Cdc48 の補因子 Npl4 がユビキチン鎖を認識する事で Cdc48 はユビキチン鎖で標識されたタンパク質を解きほぐすことが知られていましたが、Npl4 がどの部分を使ってどのようにユビキチン鎖を認識しているのかは不明でした。また、Cdc48 が機能を果たすためには Cdc48、Ufd1、Npl4 がそれぞれ相互作用して安定な複合体を形成する必要がありますが、Ufd1 と Npl4 がどのように結合しているのかも不明でした。共同研究グループは、ユビキチン鎖および Ufd1 が Npl4 と結合した状態の立体構造を決定し、さらに分子・細胞レベルでの変異体解析を行うことで、Cdc48-Ufd1-Npl4 複合体の形成機構や、Npl4 によるユビキチン鎖認識の分子機構を明らかにしました。Cdc48 は細胞のがん化や神経変性疾患に係るため、本成果はこれらの疾病の原因の解明や、創薬につながる知見になると期待されます。

発表内容：

ユビキチンは酵母からヒトまで保存された小さなタンパク質で、標的となるタンパク質に目印として付加される事で、標的タンパク質の機能をさまざまに制御します。このユビキチンは単独でも働きますが、ユビキチンが数珠つなぎになって形成されるユビキチン鎖も重要な情報伝達物質として働きます。ユビキチン鎖はユビキチンの C 末端のグリシン残基と、別のユビキチンの N 末端アミノ基、もしくはリジン側鎖のアミノ基が共有結合を形成することで合成されますが、結合に使われる残基によってユビキチン鎖は異なる機能を持ちます。細胞内で最も豊富に存在する Lys48 でつながったユビキチン鎖（Lys48 鎖）は、不要なタンパク質や異常タンパク質がプロテアソーム（注3）によって分解・除去される目印として働きます。しかし、プロテアソームはしっかりとした構造のタンパク質を分解するのは苦手なため、多くの場合プロテアソームによる分解の前準備として、Lys48 鎖で標識されたタンパク質は Cdc48 によって解きほぐされる必要があります（図1）。また、ユビキチン鎖の種類は、この解きほぐしの段階で識別されています。Cdc48 は2つの補因子、Ufd1 と Npl4 とともに働きますが、Ufd1 は Cdc48 と Npl4 と同時に結合することで複合体の安定化に働き、Npl4 が Lys48 鎖を特異的に認識する

ことで Cdc48 は Lys48 鎖で標識されたタンパク質を解きほぐします。Cdc48、Ufd1、Npl4 がどのように組み合わさって複合体を形成しているのかという点は、この複合体の形成機構を理解する上で非常に重要ですが、Ufd1 と Npl4 がどのように結合しているのかは不明でした。また、Npl4 がどのように Lys48 鎖を認識しているのかということも明らかにされていませんでした。

深井周也准教授らは Lys48 鎖と Npl4 とが結合した状態の結晶を作製し、大型放射光施設 SPring-8 (兵庫県佐用郡) の高輝度 X 線を利用して立体構造を決定しました (図 2、左)。今回作製した Lys48 鎖はユビキチンを 2 つつなげたものですが、2 つのユビキチンのうち、C 末端グリシンを使って別のユビキチンに結合している方を遠位のユビキチン、結合されている方を近位のユビキチンと呼びます。結晶構造中で Npl4 は遠位、近位のユビキチンを同時に認識していましたが、変異体解析により遠位のユビキチンが特にユビキチン鎖の結合に重要である事が明らかになりました。一方、近位のユビキチンは Npl4 の Lys48 鎖特異的な認識に影響を及ぼしていることがわかりました。また、Npl4 がこれら 2 つのユビキチンと結合することが、Cdc48-Ufd1-Npl4 複合体の活性化に関わることも実験で確認できました。

上記の成果に加えて、深井周也准教授らは Ufd1 と Npl4 とが結合した状態の結晶についても同様に立体構造を決定しました (図 2、右)。今回構造決定に用いた Ufd1 はアミノ酸 20 残基に満たない非常に短い領域でしたが、Npl4 表面の溝にぴったりとはまり込むように非常に強く結合していました。変異体の結合実験により、構造解析の結果として明らかになった相互作用に関わるアミノ酸の重要性を確認したことに加えて、Ufd1 と Npl4 の結合が減弱する変異体では Cdc48-Ufd1-Npl4 複合体がバラバラに解離してしまい、Cdc48 が機能を果たせなくなってしまう事を明らかにしました。

プロテアソームによるタンパク質分解系の破綻はがんや神経変性疾患と密接に関わっており、プロテアソームの阻害剤はすでに抗がん剤として用いられています。さらに、最近ではプロテアソームの前段階で機能する Cdc48 もまた、有用な抗がん剤の標的となると注目されています。Cdc48 の補因子である Ufd1 と Npl4 との結合を阻害することで Cdc48 の機能を止めることができるため、本研究で得られた Ufd1 と Npl4 との複合体の立体構造は、将来的に抗がん剤開発の基盤となることが期待されます。

※本研究は、文部科学省科研費および日本学術振興会科研費 (新学術領域研究、基盤研究 (B)、若手研究)、(公財) 武田科学振興財団の研究助成により実施しました。

発表雑誌 :

雑誌名 : *Nature Communications*

論文タイトル : Structural insights into ubiquitin recognition and Ufd1 interaction of Npl4

著者 : Yusuke Sato, Hikaru Tsuchiya, Atsushi Yamagata, Kei Okatsu, Keiji Tanaka, Yasushi Saeki*, and Shuya Fukai*

DOI 番号 : 10.1038/s41467-019-13697-y

問い合わせ先 :

東京大学定量生命科学研究所 蛋白質複合体解析研究分野
准教授 深井 周也 (ふかい しゅうや)

用語解説：

(注1) Cdc48 : AAA+タイプの六量体リング構造を持った ATPase。さまざまな補因子とともににはたらき、ATP の加水分解のエネルギーを利用して標的タンパク質をリング構造の穴に通すことで、標的タンパク質を解きほぐす機能を持つ。

(注2) ユビキチン鎖 : ユビキチンは、基本的に標的タンパク質の特定のリジン残基に共有結合を介して付加される。ユビキチン自身も標的タンパク質の一つであるため、ユビキチン同士が結合して数珠つなぎになったユビキチン鎖を形成する。

(注3) プロテアソーム : 細胞質や核内の不要なタンパク質を分解する、筒状の巨大な酵素複合体。ユビキチン鎖により標識されたタンパク質を選択的に分解することでさまざまな生命現象を制御する。

添付資料：

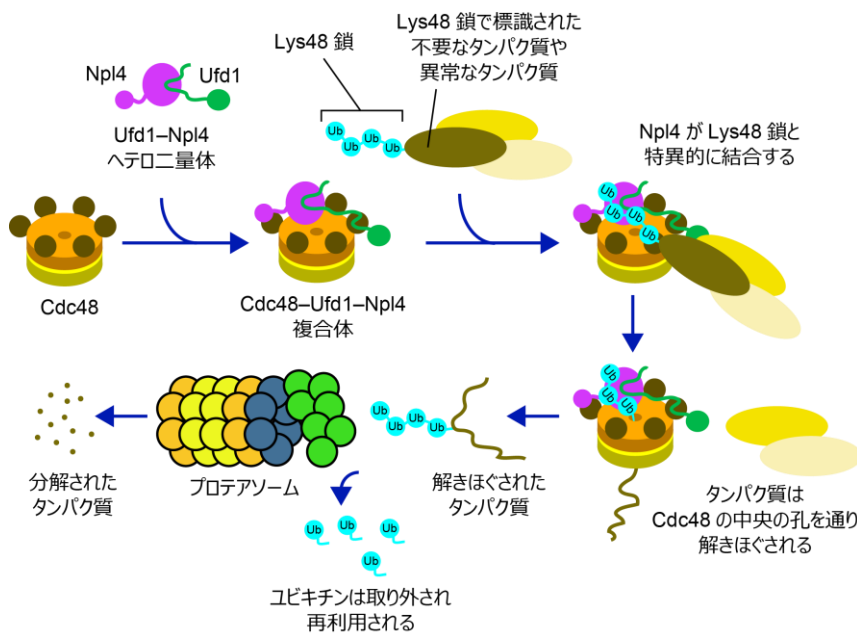


図1 プロテアソームによるタンパク質分解における Cdc48 のはたらき

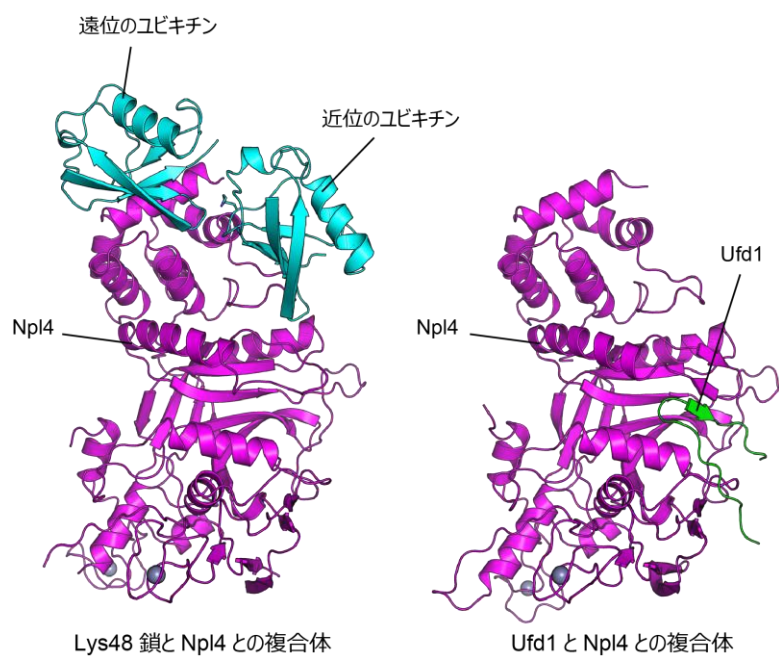


図2 Lys48 鎖と Npl4 との複合体、および Ufd1 と Npl4 との複合体の結晶構造