

2023 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2023 年度採択研究代表者

古畑 隆史

東京大学 大学院工学系研究科
助教

ユビキチンコードに基づく標的分解経路の化学的プログラミング

研究成果の概要

本研究は、細胞内のタンパク質を標的とした効率的な分解と分解経路の精密制御を可能とする新規分子基盤の確立に挑むものである。特に、タンパク質の品質管理に重要な翻訳後修飾である不均一ユビキチン鎖（複数の結合様式を持つユビキチン鎖）に着目し、その分解誘導能と分解経路の選択性について構造機能相関を明らかにすることで、標的を適切な経路を介して分解に導くための合理的な機能性ユビキチン鎖の設計と実現に繋げる。

2023年度は、細胞内における不均一鎖の分解誘導能と分解経路の系統的評価に向けて、耐酵素分解性のポリユビキチン鎖の構築法の確立を試みた。具体的には、非天然結合であるオキシム結合に着目し、ユビキチン C 末端に導入したオキシアミンと、システイン残基に導入したアルデヒドとの反応を介してユビキチン同士を高効率に連結可能な条件を探索した。実際に、pH5 程度の弱酸性条件の下、6M グアニジン存在下で1～数時間で連結反応が完了することを確認し、この反応を用いることで、プロテアソーム経路による強力な分解誘導能が期待される K63/K48 鎖、K29/K48 鎖、K29/K48 分岐型トリユビキチン鎖が合成可能であることを示した。また、透析によりリフォールディングし、陽イオン交換クロマトグラフィーで精製した K63/K48 鎖を CD 測定により評価したところ、天然のイソペプチド結合により連結した K63/K48 鎖と同等のシグナルが得られ、機能の発揮に重要な高次構造が維持されていることが示唆された。一方、オキシム結合で連結した分岐型トリユビキチン鎖は、天然型のユビキチン鎖に比べてはるかに脱ユビキチン化酵素による切断を受けにくいことも確かめられた。

今後は、オキシム連結反応を用いて、構造の異なる不均一ポリユビキチン鎖を修飾した蛍光タンパク質を合成し、試験管内や細胞内における分解挙動を調べることで、不均一鎖の分岐構造にプログラムされた分解誘導能や分解経路選択性の抽出を目指す。