

機関番号：82609
 領域設定期間：平成30年度～令和4年度
 領域番号：8001
 研究領域名（和文）ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア
 研究領域名（英文）New frontier for ubiquitin biology driven by chemo-technologies
 領域代表者
 佐伯 泰（SAEKI Yasushi）
 公益財団法人東京都医学総合研究所・基礎医科学研究分野・プロジェクトリーダー
 研究者番号：80462779
 交付決定（予定）額（領域設定期間全体）：（直接経費）1,170,100,000円

研究の概要

ユビキチン化はタンパク質の分解、細胞内局在、相互作用を調節することで多彩な生命現象を時空間的に制御する可逆的な翻訳後修飾である。近年、ユビキチン修飾の様式が想定外に多様かつダイナミックであることが明らかになり、各修飾様式が制御する生命現象の理解のために、遺伝学的手法に依らない新機軸の解析・介入手法が渴望されている。本領域ではユビキチン研究者と生命科学指向の有機化学者が結集し、ケモテクノロジーを利用したユビキチン系制御ツールを開発することにより、ユビキチン研究を革新すると共に、新しい細胞機能制御技術の創出に挑戦する。本領域はライフサイエンス研究全般の発展に大きく寄与すると同時に爆発的に進展しているユビキチン創薬への波及効果が期待できる。

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：ケミカルバイオロジー、ユビキチン、翻訳後修飾、タンパク質分解

1. 研究開始当初の背景

ユビキチン修飾は、プロテアソームによるタンパク質分解だけではなく、シグナル伝達、膜タンパク質の輸送、DNA修復、選択的オートファジーなど様々な細胞機能を制御することが明確となってきた。このユビキチンの多彩な機能はユビキチン修飾の構造多様性に由来しており、ユビキチン鎖の連結様式、鎖長、分岐、ユビキチン自身の翻訳後修飾の組み合わせにより生じる多種多様なユビキチンコード（情報）が特異的なデコーダー分子に読み解かれること（デコード：解読）で機能を発現する。しかし、ユビキチンコードは想定外に多様かつダイナミックであり、また、デコーダー分子も多様であるため、ユビキチンコードの全容は未だ不明である。一方、神経変性疾患やがん、自己免疫疾患、自閉症などの患者より、ユビキチン関連因子の変異が次々と同定されているが、これらの因子の機能や疾患発症のメカニズムが明確なものは少なく、個々のユビキチン依存的経路を解析する新たな手法やツールの開発が望まれている。

世界に目を向けると、プロテアソーム阻害剤によるがん治療の成功を契機として、ユビキチン化酵素や関連分子を標的とした阻害剤開発「ユビキチン創薬」が大規模に進展している。また、ユビキチンリガーゼと基質タンパク質の両者と結合するキメラ化合物 PROTAC（proteolysis-targeting chimera）や SNIPER（specific and nongenetic IAP-dependent protein eraser）、サリドマイド誘導体によるプロテインノックダウン技術の開発がアカデミアや製薬会社を巻き込んで未曾有に拡大しており、ユビキチン研究とケミカルバイオロジーの融合によるグループ形成の機運が急速に高まっている。

2. 研究の目的

本領域は、日本をリードするユビキチン研究者と生命科学研究を志向する有機化学者が密接に連携し、ユビキチンにフォーカスした化学技術（ケモテクノロジー）を共に開発し活用することで、未だ全容が不明であるユビキチンコードの動作原理解明と、ユビキチンを利用した新しい細胞機能制御技術の創生を目標とする。具体的には、ユビキチンコードの複雑性と解読機構の全体像解明、プロテインノックダウン技術の拡充、任意のタンパク質を様々なユビキチン化することで分解だけではなく局在や活性を制御するような新たな方法論開発に挑戦する。この次世代型ユビキチン研究の推進により、ユビキチンが関与する新しいバイオロジーの発見、ユビキチン関連疾患の発症機構の正確な理解、さらにはユビキチン創薬への応用展開が期待され、生命科

学・医科学のイノベーションに多大に貢献できることが期待される。

3. 研究の方法

本領域は、2つの研究項目を設定し、相互に連携することで、ケモテクノロジーを活用した次世代型ユビキチン研究を実施する(図1)。研究項目 A01「ケモテクノロジーによるユビキチンコードの解読と制御」では、多様なユビキチン依存的経路においてケモテクノロジーの効果的な介入点を明確にし、ケモテクノロジーを導入することで個々のユビキチンコードの動作原理解明に挑戦する。研究項目 A02「革新的ユビキチンケモテクノロジーの創出」では、ユビキチン専用の様々な化学ツール(低分子化合物、機能性ペプチド、化学合成タンパク質、人工抗体など)を方法論も含めて開発し応用研究を展開する。総括班は、新規ケモテクノロジーの発展を支える研究プラットフォーム(低分子化合物スクリーニング、化合物合成、ペプチド合成、タンパク質化学合成、質量分析解析、構造解析)を整備すると共に、本領域の研究全般の陣頭指揮を執ることで、異分野融合の連携研究を強力に推進する。

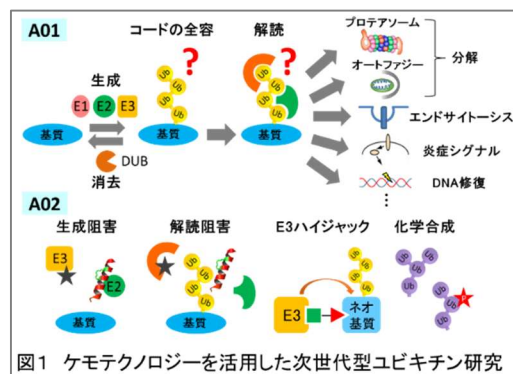


図1 ケモテクノロジーを活用した次世代型ユビキチン研究

4. 研究の進展状況及び成果

研究項目 A01 では、プロテアソームによるタンパク質分解経路、選択的オートファジーによるオルガネラ分解、炎症シグナル伝達、膜タンパク質の輸送・品質管理などの主要なユビキチン依存的経路を中心に、様々なユビキチンコードとその解読分子について詳細な解析を進めた。研究項目 A02 では、個々のユビキチン鎖とデコーダー分子のタンパク質間相互作用を破壊する低分子化合物、細胞膜透過性阻害ペプチド、人工抗体の開発を進め、一部では開発に成功しつつある。また、新規 E3 リガーゼの低分子化合物リガンド候補を多数取得し、任意のタンパク質に異なるユビキチン鎖を付加することができるキメラ化合物 UbTAC (ubiquitin-targeting chimera) の開発も大きく進展している。現在、領域内では 105 件の領域内共同研究が実施されており、各班員が有機的かつ相互補完的に連携した研究グループが構築されている。また、ユビキチン研究に特化した最先端プロテオミクス解析法を確立し、化学合成ユビキチンと組み合わせたユビキチン修飾の高次構造解析にも成功しつつある。このように、ユビキチンバイオロジー研究、ケモテクノロジー開発が大きく進展している。

研究成果としては、現在までに原著論文 97 報が誌上発表されており、そのうち 25 報が領域内共同研究による成果である。その他、英文総説 22 報、日本語総説 38 報が発表されており、本領域に関する総説集も 3 件発表された。具体的な研究成果としては、K48 連結ユビキチン鎖とデコーダー分子 RAD23B の液-液相分離の発見 (Nature 2020)、モノユビキチン化による M1 鎖形成 E3 リガーゼ LUBAC の活性制御の発見 (Nat Cell Biol 2020)、K63 連結ユビキチン鎖による停滞リボソーム解離機構の解明 (NSMB 2020、Science 2020)、K48 連結ユビキチン鎖デコーダー-NPL4-UFD1 の構造解析 (Nat Commun 2019)、マルチプルモノユビキチン化による DNA 維持メチル化の機構解明 (Nat Commun 2020) など、ケモテクノロジーの標的分子の絞り込みに成功した。一方、新規ユビキチンリガーゼ AhR を利用した新しいクラスの PROTAC 開発 (ACS Chem Biol 2019)、ヘリカルペプチド型 SNIPER の開発 (Chem Commun 2019)、サリドマイドによる催奇形性を誘導するネオ基質の同定 (Nat Chem Biol 2019)、B リンパ腫治療に資する LUBAC 阻害剤の開発 (Blood 2020、Commun Biol 2020)、ミトコンドリア標的 SNIPER を用いたユビキチンデコーダー-OPTN の新機能解明 (J Cell Biol in press) など、プロテインノックダウン法の拡充、新規 E3 リガーゼ阻害剤、さらにはケモテクノロジーを用いたユビキチンコード解析が大きく進展した。

5. 今後の研究計画

個々の研究課題はもとより、本領域で実施されている以下の異分野連携の共同研究を精力的に推進し成功に導くことで、異分野融合研究の優れたモデルケースとする。

(1)ユビキチンコードの全体像解明：現在、細胞内のユビキチン修飾の連結様式・分岐・化学修飾の組成比の解明まで進展しており、今後、人工酵素や新規化学ツールを MS と組み合わせることで、より高次の構造情報を取得する。

(2)ユビキチンコードの動作機構解明：現在、多様なユビキチンバイオロジー研究が進展し、ユビキチンコード・デコードの対応と発現する細胞機能が徐々に解明されている。今後、開発に成功しつつある各種デコーダー阻害化合物、人工抗体等を用いて、個々のユビキチンコードの動作原理を解明する。

(3)ユビキチンケモテクノロジーを利用した細胞機能制御：開発されつつある UbTAC や新型 SNIPER/PROTAC を用いた選択的タンパク質分解あるいは局在化により、細胞機能を制御する方法論を創出する。

(4)ユビキチン・プロテアソーム創薬への展開：将来的にユビキチン・プロテアソーム創薬への展開可能な SNIPER/PROTAC、NPL4-UFD1 阻害剤などを方法論も含めて開発する。

6. 主な発表論文等（受賞等を含む）

(1) 発表論文（以下を含む原著論文 97 報、英文総説 22 報、日本語総説 38 報を発表した）

1. Jo T, *Nishikori M, Kogure Y, Arima H, Sasaki K, Sasaki Y, Nakagawa T, Iwai F, Momose S, Shiraishi A, Kiyonari H, Kagaya N, Onuki T, Shin-ya K, Yoshida M, Kataoka K, Ogawa S, *Iwai K, Takaori-Kondo A. LUBAC accelerates B-cell lymphomagenesis by conferring B cells resistance to genotoxic stress. **Blood** in press (2020)
2. *Yamano K, Kikuchi R, Kojima W, Hayashida R, Koyano F, Kawawaki J, Shoda T, Demizu Y, Naito M, Tanaka K, *Matsuda N. Critical Role of Mitochondrial Ubiquitination and the OPTN-ATG9A Axis in Mitophagy. **J. Cell Biol.** in press (2020)
3. Yasuda S, Tsuchiya H, Kaiho A, Guo Q, Ikeuchi K, Endo A, Arai N, Ohtake F, Murata S, Inada T, Baumeister W, Fernandez-Busnadiego R, *Tanaka K, *Saeki Y. Stress- and ubiquitylation-dependent phase separation of the proteasome. **Nature** 578, 296-300 (2020)
4. Buschauer R, Matsuo Y, Sugiyama T, Chen YH, Alhusaini N, Sweet T, Ikeuchi K, Cheng J, Matsuki Y, Gilmozzi A, Berninghausen O, Becker T, *Coller J, *Inada T, *Beckmann, R. Ccr4-Not monitors the translating ribosome for codon optimality. **Science** 368, 6448 (2020)
5. Fuseya Y, Fujita H, Kim M, Ohtake F, Nishide A, Sasaki K, Saeki Y, Tanaka K, Takahashi R, *Iwai K. The HOIL-1L ligase modulates immune signaling and cell death via mono-ubiquitination of LUBAC. **Nat. Cell Biol.** 22, 663-673 (2020)
6. Matsuo Y, Tesina P, Nakajima S, Mizuno M, Endo A, Buschauer R, Cheng J, Shounai O, Ikeuchi K, Iwasaki S, Saeki Y, Becker T, *Beckmann R, *Inada T. RQT complex dissociates ribosomes collided on endogenous RQC substrate SDD1. **Nat. Struct. Mol. Biol.** 27, 323-332 (2020)
7. Asatsuma-Okumura T, Ando H, De Simone M, Yamamoto J, Sato T, Shimizu N, Asakawa K, Yamaguchi Y, Ito T, *Guerrini L, *Handa H. p63 is a cereblon substrate involved in thalidomide teratogenicity. **Nat. Chem. Biol.** 15, 1077-1084 (2019)
8. *Nishiyama A, Mulholland C, Bultmann S, Kori A, Endo A, Saeki Y, Qin W, Trummer C, Chiba Y, Yokoyama H, Kumamoto S, Kawakami T, Hojo H, Nagae G, Aburatani H, Tanaka K, *Arita K, *Leonhardt H, *Nakanishi M. Two distinct modes of DNMT1 recruitment ensure the stable maintenance DNA methylation. **Nat. Commun.** 11, 1222 (2020)
9. Oikawa D, Sato Y, Ohtake F, Komakura K, Hanada K, Sugawara K, Terawaki S, Mizukami Y, Phuong HT, Iio K, Obika S, Fukushi M, Irie T, Tsuruta D, Sakamoto S, Tanaka K, Saeki Y, Fukai S, *Tokunaga F. Molecular bases for HOIPINs-mediated inhibition of LUBAC and innate immune responses. **Commun. Biol.** 3, 163 (2020)
10. Sato Y, Tsuchiya H, Yamagata A, Okatsu K, Tanaka K, *Saeki Y, *Fukai S. Structural insights into ubiquitin recognition and Ufd1 interaction of Npl4. **Nat. Commun.** 10, 5708 (2019)
11. Sasaki K, Himeno A, Nakagawa T, Sasaki Y, Kiyonari H, *Iwai K. Modulation of autoimmune pathogenesis by T cell-triggered inflammatory cell death. **Nat. Commun.** 10, 3878 (2019)
12. Ohoka N, Tsuji G, Shoda T, Fujisato T, Kurihara M, Demizu Y, *Naito M. Development of small molecule chimeric degraders that bring target proteins and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) E3 ligase into close proximity. **ACS Chem. Biol.** 14, 2822-2832 (2019)
13. *Misawa T, *Ohoka N, Oba M, Yamashita H, Tanaka M, Naito M, *Demizu Y. Development of 2-aminoisobutyric acid (Aib)-rich cell-penetrating peptide foldamers for efficient siRNA delivery. **Chem. Commun.** 55, 7792-7795 (2019)
14. Kamo N, *Hayashi G, *Okamoto A. Triple Function of 4-Mercaptophenylacetic Acid Promotes One-Pot Multiple Peptide Ligation. **Angew. Chem. Int. Ed.** 57, 16533-16537 (2018)
15. Azuma Y, Imai H, Kawaguchi Y, Nakase I, Kimura H, *Futaki S. Modular redesign of a cationic lytic peptide to promote the endosomal escape of biomacromolecules. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.** 57, 12771 (2018)

(2) 領域関連の総説集

1. ファルマシア 特集「ケモテクノロジーが拓くユビキチン創薬研究の新潮流」第 56 巻第 1 号
2. 生化学 特集「非典型型ユビキチン鎖の生理機能」第 92 巻第 1 号
3. Pharmaceuticals Special issue:"Targeted Protein Degradation: From Chemical Biology to Drug Discovery" オンライン出版 www.mdpi.com

(3) 受賞

1. 山野晃史 2018 年度日本生化学会若手奨励賞
2. 吉田 稔 第 2 回日本医療研究開発大賞（健康・医療戦略担当大臣賞）
3. 村田茂穂 第 14 回柿内三郎賞
4. 岩井一宏 2019 年度武田医学賞
5. 岩井一宏 2019 年度上原賞

(4) ホームページ等

領域ホームページ <http://www.ubiquitin.jp/>