

ID No.	2060
研究課題名	ユビキチン連結酵素(UBE2N)の相互作用基盤解明
研究代表者	金  玫秀      (京都大学・特定准教授)
研究組織 受入教員	井上 純一郎  (東京大学医科学研究所・教授)
研究報告書	
<p>Ubc13 (E2 酵素) は TRAF6 (E3 酵素) と共役し、63 番目のリジン残基を介したポリユビキチン鎖 (K63 鎖) を形成する。Ubc13 による TRAF6 の K63 鎖の形成は炎症免疫応答に重要な役割を担っている。赤痢菌の病原因子 (OspI) が宿主細内で、ユビキチン連結酵素である Ubc13 と結合し、Ubc13 の 100 番目のグルタミンをグルタミン酸に脱アミド化することが報告されている。しかし、脱アミド化された Ubc13 がどのように TRAF6 のユビキチン化を抑制するかは不明であるため、申請者らは、Ubc13-TRAF6 の相互作用解析を行い TRAF6 抑制の分子メカニズム解明を目指した。本研究では、脱アミド化した Ubc13 の細胞内機能解析を行った。そのため、脱アミド型 Ubc13 を内在性 Ubc13 と置換した細胞 (以下、Ubc13 QE) を作成した。Ubc13 欠損細胞は致死であるが、Ubc13 QE 細胞は生存には差がなかった。次に Ubc13 が関係する代表的な炎症シグナル経路 (TNF または IL1<math>\beta</math>) に脱アミド化 Ubc13 の影響を調べた。Ubc13QE 細胞は、TNF シグナル経路は影響しなかったが、IL1<math>\beta</math>シグナルの抑制が見られた。これらの結果から、Ubc13 の脱アミド化は TRAF6 依存的なシグナル経路を特異的抑制することが示唆された。さらに、超解像顕微鏡を利用し、細菌感染時のユビキチンのイメージングを行った。サルモネラ菌を感染させた細胞を用いて、さまざまなユビキチン鎖を認識する抗体を用いて免疫染色を行い、サルモネラ菌の周りに集まるユビキチン鎖の時空間的イメージングを行った。今後、サルモネラ菌のユビキチン化を促進するリガーゼやユビキチン化されるサルモネラ菌の蛋白質を明らかにしていきたい。</p>	