

## 人工知能を駆使し、新しいたんぱく質品質管理の仕組みを解明 —発達・てんかん性脳症発症機構の解明にも繋がる成果—

順天堂大学大学院医学研究科器官・細胞生理学の小松雅明 教授、石村亮輔 助教、北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野の野田展生 教授、東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野の稲田利文 教授の研究グループは、新しい細胞内のたんぱく質品質管理の仕組みを明らかにしました。研究グループは人工知能プログラム AlphaFold Multimer<sup>\*1</sup> を駆使し、これまで立体構造が知られていなかった UFM1 連結酵素<sup>\*2</sup> の構造を高精度に予測しました。その結果、UFM1 連結酵素である UFL1 が小胞体局在たんぱく質 UFBP1 及び UFL1 結合たんぱく質 CDK5RAP3 と三者複合体を形成した時に、小胞体における合成途中のたんぱく質品質管理機構 (ER-RQC)<sup>\*3</sup> に働くことが明らかになりました。UFM1 連結酵素が関わる UFM1 システムの異常は、遺伝性の発達・てんかん性脳症<sup>\*4</sup> を引き起こすことが知られており、本疾患の発症機序解明に繋がることも期待されます。本論文は *Science Advances* 誌のオンライン版に 2023 年 8 月 18 日付で公開されました。

### 本研究成果のポイント

- 人工知能プログラムにより高精度な UFM1 連結酵素複合体の構造予測に成功した。
- UFM1 連結酵素の三者複合体形成が RPL26 への UFM1 連結に必要であった。
- UFM1 連結酵素複合体と UFM1 が連結された RPL26 との結合が ER-RQC に必要であった。

### 背景

研究グループは、ヒトゲノムデータベースと質量分析解析によりたんぱく質修飾システム UFM1 システム<sup>\*5</sup> を発見し、このシステムを構成するたんぱく質を作り出す遺伝子の変異が遺伝性の発達・てんかん性脳症を引き起こすことを報告してきました。

UFM1 システムとは、UFM1 を UFM1 活性化酵素、UFM1 結合酵素、そして UFM1 連結酵素を介して細胞内たんぱく質に共有結合するシステムであり、UFM1 連結酵素が基質特異性（細胞内のどのたんぱく質に結合するのか）を決定することが知られています。しかしながら、UFM1 連結酵素の立体構造が解かれておらず、その詳細な仕組みは不明でした。

## 内容

今回、研究グループは人工知能プログラム AlphaFold Multimer を用いて UFM1 連結酵素複合体の構造予測を行いました。その結果、UFM1 連結酵素である UFL1 と小胞体に局在する UFBP1 とが安定に複合体を形成すること、その複合体に CDK5RAP3 が結合すると小胞体上で翻訳が停止したりボソーム\*6 の RPL26 に UFM1 が連結されることが明らかになりました (図1)。さらに、この UFM1 連結酵素複合体は、UFBP1 に含まれる UFM1 結合モチーフを介して UFM1 が連結された RPL26 に結合すること、この UFM1 を介した結合が小胞体における合成途中のたんぱく質分解に必要であることが明らかになりました (図2)。

## 今後の展開

今回の成果は、基礎研究における人工知能の有用性を示すとともに、細胞のたんぱく質品質管理機構に新たな知見を与えるものです。さらに、UFM1 システムの異常が直接に関与する遺伝性の発達・てんかん性脳症発症の発症機構の解明にも繋がるものです。

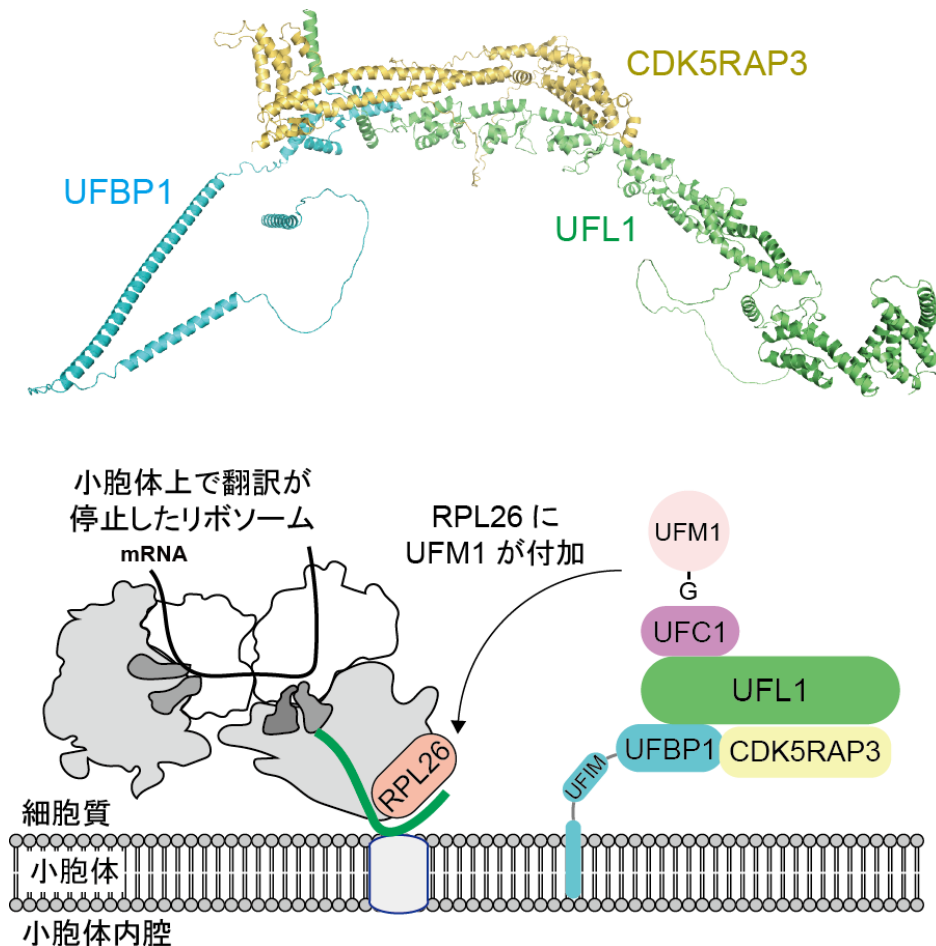


図1：(上) 人工知能プログラム AlphaFold Multimer により予測された UFM1 連結酵素 UFL1 と小胞体局在たんぱく質 UFBP1、UFL1 結合たんぱく質 CDK5RAP3 の高精度三者複合体構造。(下) 構造予測を基盤に、三者複合体が形成されると小胞体上で翻訳を停止したりボソームの RPL26 に UFM1 が付加されることがわかった。

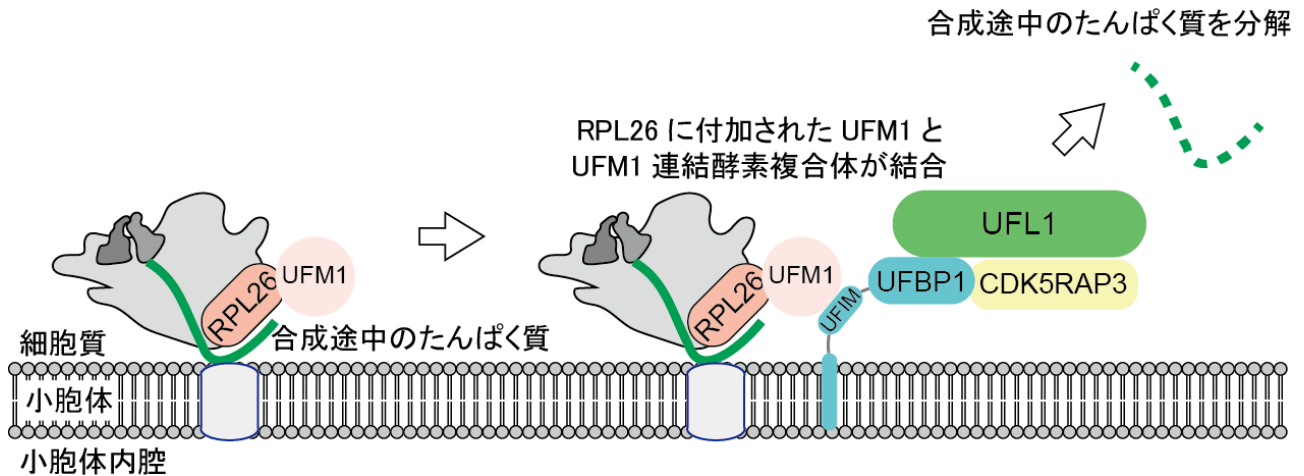


図2：翻訳が停止したりボソーム内の UFM1 が付加された RPL26 と UFM1 連結酵素複合体との結合が小胞体における合成途中のたんぱく質分解に必要である。

### 用語解説

- \*1 人工知能プログラム AlphaFold Multimer：2020年11月30日にDeepMind社が発表した人工知能プログラム AlphaFold2 は、わずかな時間でアミノ酸配列からその立体構造を極めて高い精度で予測できることを示し、生命科学全般の研究に大きな影響を与えました。2022年3月にはたんぱく質-たんぱく質複合体を予測するために構築された AlphaFold Multimer (バージョン 2.2.0) が公開され、複数のアミノ酸配列を入力するだけで複数のたんぱく質からなる複合体の予測構造を出力させることができることが示されました。
- \*2 UFM1 連結酵素：UFL1 (UFM1-ligating enzyme 1) と呼ばれ、UFM1 のシステムにおいて基質選択性を担保します。
- \*3 小胞体における合成途中のたんぱく質品質管理機構 (ER-RQC)：翻訳伸長反応の正確かつ厳密な制御は、正確な遺伝子発現にきわめて重要です。たんぱく質の合成途上での翻訳停止は遺伝子産物の機能に重大な欠損を示すため、翻訳停止した合成途中のたんぱく質は複数の品質管理機構によって認識され排除されます。翻訳伸長の反応が途中で停止した場合、合成途上のポリペプチド鎖はユビキチン化とプロテアソームによる迅速な分解を受けますが、それを ribosome-associated quality control (RQC) と呼びます。膜たんぱく質や分泌たんぱく質は小胞体 (ER) 上でのリボソームで翻訳され、小胞体内腔に運ばれる必要があります。膜たんぱく質や分泌たんぱく質の RQC は ER-RQC と呼ばれます。
- \*4 UFM1 システムの異常による発達・てんかん性脳症：UFM1、UBA5、UFC1 をコードする遺伝子変異により引き起こされる遺伝性小児てんかん性脳症。病態発症機序は不明であり、アンメット・メディカル・ニーズの高い疾患。
- \*5 UFM1 システム：UFM1 を UFM1 活性化酵素、UFM1 結合酵素、そして UFM1 連結酵素を介して細胞内たんぱく質に共有結合するシステム。UFM1 連結酵素が共有結合される細胞内たんぱく質を決定します。ER-phagy と呼ばれるオートファジーによる選択的な小胞体分解や ER-RQC を制御すると考え

られています。

- \*6 リボソーム：リボソームタンパク質とリボソーム RNA (rRNA) から構成される巨大な複合体であり、mRNA にコードされている遺伝暗号 (コドン) に従ってアミノ酸同士を結合させ、たんぱく質を合成する装置。

## 原著論文

本研究は Science Advances 誌のオンライン版に 2023 年 8 月 18 日付で公開されました。

タイトル：Mechanistic insights into the roles of the UFM1 E3 ligase complex in ufmylation and ribosome-associated protein quality control

タイトル(日本語訳)：UFM1 化と翻訳品質管理機構における UFM1 E3 複合体の役割

著者：Ryosuke Ishimura<sup>1, #</sup>, Sota Ito<sup>2, #</sup>, Gaoxin Mao<sup>1</sup>, Satoko Komatsu-Hirota<sup>1</sup>, Toshifumi Inada<sup>2,\*</sup>, Nobuo N Noda<sup>3,\*</sup> and Masaaki Komatsu<sup>1,\*</sup> (#co-first authors, \*co-corresponding authors)

著者(日本語表記)：石村亮輔<sup>1, #</sup>、伊藤壮太<sup>2, #</sup>、毛高鑫<sup>1</sup>、小松-廣田聡子<sup>1</sup>、稲田利文<sup>2,\*</sup>、野田展生<sup>3,\*</sup>、小松雅明<sup>1,\*</sup> (#共同筆頭著者, \*共同責任著者)

著者所属：1) 順天堂大学大学院医学研究科器官・細胞生理学、2) 東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野、3) 北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野

DOI: 10.1126/sciadv.adh3635

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37595036/>

本研究は JSPS 科研費 (JP22K06931, JP21H04163, JP19H05281, JP21H05277, JP22H00401, JP19H05707, JP19H05706, JP21H004771)、革新的先端研究開発支援事業 AMED-CREST (JP20gm1110010, JP223fa627001, JP22gm1410004h0003)、戦略的創造研究推進事業 JST-CREST (JPMJCR20E3)、武田科学振興財団などの支援を受け実施されました。本研究にご協力いただいた皆様には深謝いたします。

### <研究内容に関するお問い合わせ先>

順天堂大学大学院医学研究科器官・細胞生理学

教授 小松 雅明 (こまつ まさあき)

[https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/kikan\\_saibou/](https://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/kikan_saibou/)

北海道大学遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野

教授 野田 展生 (のだ のぶお)

<https://mechanism.igm.hokudai.ac.jp/>

東京大学医科学研究所 RNA 制御学分野

教授 稲田 利文 (いなだ としふみ)

[https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/basicmedicalsciences/page\\_00154.html](https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/basicmedicalsciences/page_00154.html)

<取材に関するお問い合わせ先>

順天堂大学 総務局 総務部広報担当（濱田、田島）

<https://www.juntendo.ac.jp/>

北海道大学 社会共創部 広報課

<https://www.hokudai.ac.jp>

東京大学医科学研究所 プロジェクトコーディネーター室（広報）

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>