

# 論文審査の結果の要旨

氏名 加藤 光伯

ユビキチン化は蛋白質の分解のみならず、細胞内での局在や膜への移送等の制御にも関与しており、蛋白質の機能調節において重要な翻訳後修飾の一つである。ユビキチン化反応にはユビキチン活性化酵素、結合酵素、連結酵素の3つの酵素が働いている。SCF複合体は主要なユビキチン連結酵素ファミリーの一つであり、4つのサブユニットから構成される。出芽酵母においては、そのうち3種類は各SCF複合体で共通の構成要素である。残る1つのサブユニットであるF-box蛋白質と呼ばれるグループは、ユビキチンを付加する基質蛋白質の特異性を規定していると考えられている。一般的に基質蛋白質のリン酸化がトリガーとなって、ユビキチン化が進行することが知られているが、細胞外の刺激によってSCF複合体の相互作用の強弱が変化することも示唆されている。そこで本論文ではネイティブな系を用いてSCF複合体のユビキチン化活性の制御機構を明らかにすることを目的としている。第一部ではF-box蛋白質の構成変化を介して、ユビキチン化システムの再編が行われること、第二部においてはSCF複合体のサブユニットの修飾が、複合体内部の相互作用の安定性に影響することが示された。

## 1. 環境変化と遺伝的擾乱に対するF-box蛋白質の構成変化を介したSCF複合体依存性ユビキチン化システムの再編

出芽酵母のSCF複合体の共通部分である3つの構成蛋白質にそれぞれアフィニティタグを融合させ、免疫沈降法による精製およびLC-MS/MS解析を行い、既知の17個のF-box蛋白質の内、16個の同定に成功した。この系を用いて、対数増殖期と定常期の細胞における比較定量解析を実施し、定常期でSCF複合体を形成する量が増加するF-box蛋白質を見出した。さらに基質蛋白質を過剰に発現させると、対応するF-box蛋白質の複合体中の量が増加することを見出した。これら二つの結果は、細胞は必要に応じてSCF複合体を形成するF-box蛋白質の構成を変化させることで、ユビキチン化活性を適切に再編させていることを示唆している。

## 2. Cdc53のNeddylationによるSCF複合体構成蛋白質間の相互作用安定性の調節

SCF複合体の活性を変化させる修飾としてNeddylationが知られている。これはNedd8(出芽酵母ではRub1)と呼ばれる蛋白質がSCF複合体の共通部分であるCdc53に付加する様式であり、Neddylationを受けたCdc53が含まれる複合体のユビキチン化活性はより高いものとなっていることが知られている。そのメカニズムを探る目的で、*RUB1*野生株と*rub1*欠損株においてSCF複合体内の相互作用の安定性を調べた。すると*rub1*欠損株においてはCdc53と同じく複合体の共通部分であるSkp1の相互作用の安定性が低下していることがわかった。さらにCdc53とF-box蛋白質の相互作用も不安定化していることが示された。これはNeddylationが複合体の活性向上作用以外に、F-box蛋白質の交換を調節することで、ユビキチン化活性を調整するとともに、第一部で述べたF-box蛋白質の再編の効率性に影響していることが示唆される結果である。

なお、本論文は紀藤圭治氏、太田一寿氏、伊藤隆司氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を立案・実行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。