

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

14603

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

特別研究員奨励費

4. 研究期間

平成22年度～平成23年度

5. 課題番号

22・9119

6. 研究課題名 酵母ユビキチンリガーゼ Rsp5 による異常タンパク質の分解とその制御機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	ササキ トシヤ 佐々木 俊弥	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC2)

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

細胞の持つタンパク質の品質管理機構はその破綻が疾患に深く関係することから精力的に研究されているが、原形質膜における機構にその主眼が置かれることは少なかった。原形質膜上のタンパク質はユビキチン化とその後のエンドサイトーシスを経て分解され、出芽酵母ではユビキチンリガーゼ Rsp5 が唯一原形質膜上のタンパク質をユビキチン化する。本年度の研究では研究計画に基づき、上述の機構の存在を明らかにすべく、原形質膜上のアミノ酸パーミアーゼ Gap1 をモデル基質として GFP 融合タンパク質を用いた解析を行った。その結果、タンパク質変性を引き起こすと考えられるストレス、例えばエタノールや高温で Gap1 の分解が誘導されること、また、それが Rsp5 によるユビキチン化依存的事象であることを見出した。この機構の生存戦略上の意義を解明し、酵母発酵生産能の改善に貢献することを目的に行った生育試験では、Gap1 と Rsp5 の結合を仲介するアダプター Bul1/2 遺伝子の破壊株、およびエンドサイトーシス機能欠損がエタノールや高温ストレスに感受性を示すことを示した。Rsp5 の Thr357 の Ala 置換が Rsp5 の活性を恒常化することから、この残基が Rsp5 の制御機構に関係すると考えた。さらに、今年度行った解析の結果、Rsp5 のリン酸化状態を検出することに成功した。Thr357 のリン酸化に関してはこの部位特異的な抗リン酸化ペプチド抗体を作成し解析を行ったが、結論を出すには至っていない。しかしながら、本発見は Rsp5 のリン酸化状態を検出した初めての例であり、高等真核生物にまで保存されているこのユビキチンリガーゼファミリーの制御機構を知る上で非常に大きな貢献が期待されるものである。

10. キーワード

(1) ユビキチン

(2) Rsp5

(3) パーミアーゼ

(4) 異常タンパク質

(5) タンパク質分解

(6) エンドサイトーシス

(7) ストレス

(8)

(裏面に続く)

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 0 ）件 うち査読付論文 計（ 0 ）件

著 者 名	論 文 標 題				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁	

著 者 名	論 文 標 題				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁	

著 者 名	論 文 標 題				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁	

〔学会発表〕 計（ 4 ）件 うち招待講演 計（ 0 ）件

発 表 者 名	発 表 標 題		
佐々木俊弥	出芽酵母の恒常的活性型ユビキチンリガーゼRsp5の機能解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
酵母遺伝学フォーラム第43回研究報告会	2010年9月9日	ならまちセンター (奈良市)	

発 表 者 名	発 表 標 題		
佐々木俊弥	酵母の恒常的活性型ユビキチンリガーゼRsp5によるプロリンパーミアーゼの活性制御		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会	2010年12月9日	神戸ポートアイランド (神戸市)	

発 表 者 名	発 表 標 題		
佐々木俊弥	酵母の恒常活性型ユビキチンリガーゼRsp5の機能解析		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
日本農芸化学会2011年度大会	2011年3月26日	京都女子大学（京都市）の 予定が中止となり、講演予 稿集で発表成立	

発 表 者 名	発 表 標 題		
Toshiya Sasaki	Functional analysis of the constitutively active variant of the ubiquitin ligase Rsp5 on the regulation of proline permease activity in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting	28, July, 2010	The University of British Columbia (Vancouver, Canada)	

〔図 書〕 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社		
書 名		発 行 年	総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出 願〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取 得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するw e b ページがある場合は、U R Lを記載すること。

なし