

## プロテオミクス的手法によるユビキチン様因子 SUMO の細胞機能制御機構の解明

田中克典

## 緒 言

タンパク質の翻訳後修飾は、タンパク質合成終了後のタンパク質の機能、活性、あるいは局在を変換する重要な機構であり、細胞内情報伝達や細胞周期制御においては極めて重要な役割を果たす。ユビキチンはタンパク質の選択的分解の標的分子として働くが、近年ユビキチンと構造的に類似したユビキチンファミリータンパク質の存在が明らかとなってきた。ユビキチン, SUMO, NEDD8 といったユビキチンファミリーによるタンパク質の修飾は、ポストゴルジソーティング・核・細胞質輸送・遺伝子発現・組換え・分配といった細胞機能発現の基盤となるシグナリングを調節することで、増殖・発生・再生・老化などの様々な生命現象に深く関わっている。現在までの研究から、ユビキチンファミリーによる修飾の多くは、基質タンパク質を標識化しタンパク質の移動や複合体形成を制御すると考えられており、一見異なるように見えるそれぞれのシステムの制御機構や作用機作に多くの共通性があることが示唆されている。

ユビキチンファミリータンパク質の中でも、SUMO は細胞周期・染色体組換え・分配・クロマチン動態・遺伝子発現・核輸送などに関わる種々のタンパク質を翻訳後修飾することで発生・増殖・老化などに重要な機能を果たす。こうした多彩な SUMO 修飾システムの全容を理解するためには、SUMO 化の基質タンパク質を同定し SUMO 化修飾の生物学的意義を明らかにすること、さらに SUMO 化と脱 SUMO 化の巧妙なバランス制御の仕組みや、ユビキチン化、アセチル化などとの関係を解明し、シグナル伝達網における SUMO 化基質の位置付けを明確にすることが重要である。

## 目 的

我々は、遺伝学的解析により分裂酵母 SUMO が染色体分配やテロメア維持を始めとする細胞の核内を中心とした多面的機能に重要な役割を果たしている事を既に明らかにしている。

現在、SUMO 化を受ける基質タンパク質は幾つか同定され、SUMO 修飾の生理機能が推測されつつあるが、基質同定は場当たりのアプローチしかなされていない。そこで今回、網羅的に SUMO 化基質タンパク質を同定し、その機能を系統的に解析することを目的とした。

## 結 果

TAP タグ法による SUMO タンパク質の精製及び多次元質量分析 (MudPIT 法) により、出芽酵母クロマチンリモデリング RSC (remodeling the structure of chromatin) 複合体の構成因子 Rsc1 の分裂酵母ホモログ SpRsc1 が SUMO 化修飾を受ける可能性を見いだした。RSC 複合体は SWI2/SNF2 との相同性により出芽酵母から同定された複合体で 15 のサブユニットからなり、成育に必須である。ゲノム上で Rsc1 に抗体タグを付加し、分裂酵母内で実際に SUMO 化修飾を受けるかどうか検証した。その結果、Rsc1 の SUMO 化修飾の可能性を示すバンドを確認することができ、これらのバンドは SUMO 破壊株および SUMO 経路の破壊株では検出されなかった。以上のことから、Rsc1 は分裂酵母において SUMO 化修飾を受ける基質の 1 つであることがわかった。

次に、SUMO 化修飾の有無による Rsc1 タンパク質の質的な変化を検証するために、SUMO 化修飾部位の同定を試みた。その結果、Rsc1 の 160 番目の Lysine 残基が主な SUMO 化修飾部位である事がわかった。現在、Rsc1 の全 SUMO 化修飾部位の同定および SUMO 化修飾の生物学的意義について解析を進めている。

## 考 察

あるタンパク質が SUMO 化される場合、そのタンパク質と直接あるいは間接的に相互作用する因子の多くが SUMO 化されている例が幾つかある。従って、染色体やクロマチン動態の制御と SUMO 化の関連を考える場合も、ある特定の因子の SUMO 化を念頭に置くだけでなく、それが含まれる複合体全体の SUMO 化状態を考慮する必要がある。今回単離同定した SUMO 基質候補タンパク質の幾つかにも、お互いに相互作用する可能性が報告されているものもある。よって、このような観点からの切り口でも解析を行う必要がある。

## 引用文献

Tanaka K., Nishide J., Okazaki K., Kato H., Niwa O., Nakagawa T., Matsuda H., Kawamukai M. and Murakami Y. (1999) Characterization of a fission yeast SUMO-1 homologue, Pmt3p, required for multiple nuclear events, including the control of telomere length and chromosome segregation. *Mol. Cell. Biol.* 19: 8660-8672