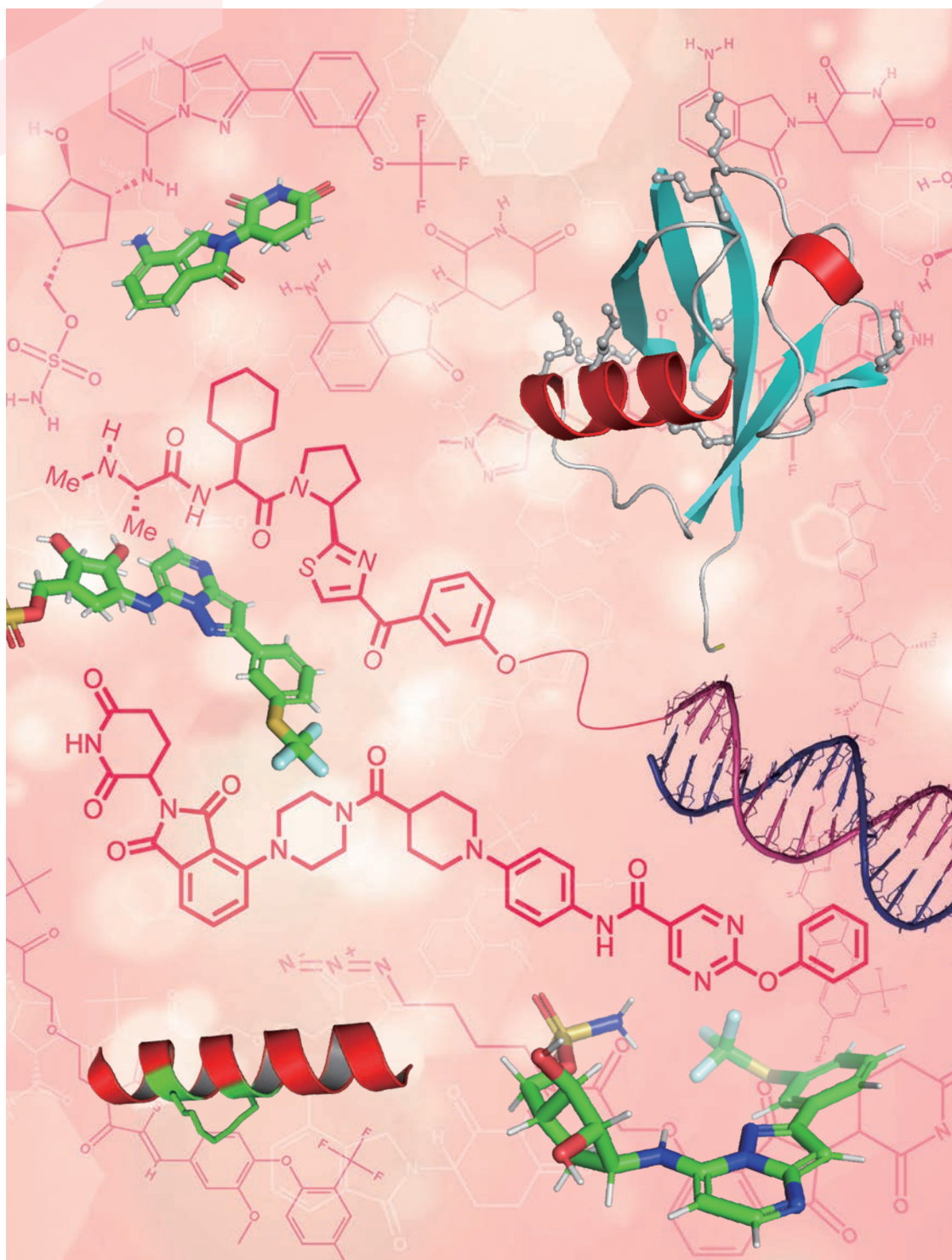


Ubiquitin new frontier driven by Chemo-technologies Newsletter

2018-2022年度 文部科学省
科学研究費補助金 新学術領域研究
ケモテクノロジーが拓く
ユビキチンニューフロンティア



4

June 2022

Ubiquitin new frontier driven by Chemo-technologies Newsletter

2018-2022年度 文部科学省
科学研究費補助金 新学術領域研究

ケモテクノロジーが拓く
ユビキチンニューフロンティア

June 2022

4

02 代表挨拶

佐伯 泰

03 就任挨拶

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 准教授に就任
山野 晃史

05 Essay

AlphaFold2の紹介
深井 周也

09 研究成果

エストロゲン受容体を標的とした
デコイ核酸型PROTACの開発
永沼 美弥子、出水 庸介

11 In silicoデザインを活用した強力で選択的な H-PGDS標的PROTACの創出

横尾 英知、出水 庸介

13 ドラッグライクネスに焦点を当てた 変異ハンチンチン分解PROTACから 低分子化合物・疎水性タグへの展開

平井 景梧

16 近位依存性ビオチン化酵素を基盤とした PROTACsおよびMolecular glues依存的な 相互作用解析技術の開発

山中 聡士

18 脱ユビキチン化酵素USP8の自己阻害機構の発見 ～USP8の活性化機構の解明に向けた大きな一歩～

柿原 慧遵

21 受賞コメント

日本農芸化学会東北支部 奨励賞を受賞
高岡 洋輔

22 第68回日本ウイルス学会学術集会で ポスター賞ダブル受賞

高橋 宏隆、江村 祐希、福岡 俊明、氷見 雄哉

26 日本学士院賞を受賞

岩井 一宏

27 2021年度日本生化学会奨励賞を受賞

佐藤 裕介

28 2021年度有機合成化学奨励賞を受賞

林 剛介

29 令和4年度文部科学大臣表彰科学技術賞 (研究部門) を受賞

佐伯 泰

30 令和4年度文部科学大臣表彰科学技術賞 (研究部門) を受賞

大竹 史明

31 日本薬学会第142年会学生優秀発表賞を受賞

秋月 慶乃

32 国際会議のお知らせ

33 MEETING REPORTS

新学術領域「ケモユビキチン」
第4回若手主体発表会に参加して

高橋 俊樹

34 新学術領域「ケモユビキチン」第6回領域班会議 活動報告

前川 大志

36 新学術領域「ケモユビキチン」第6回領域班会議 活動報告 (その2)

沖米田 司

39 活動報告

41 関連ミーティング・シンポジウム情報

43 編集後記

代表挨拶

みなさまお元気でお過ごしのことと存じます。平成30年度に発足した本新学術領域研究「ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア」は、早いもので5年目を迎え、いよいよ最終年度となりました。今年度はウィズコロナへの転換によって、国内学会や国際会議の多くがオンラインで開催予定であり、私自身、今から非常に楽しみにしております。また、12月には本領域主催の国際シンポジウム“Ubiquitin New Frontier”を東京大学伊藤謝恩ホールで開催予定ですので、是非多くの方にご参加いただければと思います。

さて昨今、PROTACやオーキシン誘導デグロン法を用いた発表を様々な研究会で耳にするようになりました。また、最近気が付きましたが、各試薬メーカーからPROTAC関連の様々なキットが続々と発売されているようです。標的タンパク質分解誘導法はこの数年で完全に市民権を得たといえます。一方、昨年から今年にかけて、ユビキチン化がタンパク質以外でも起こる、という衝撃的な報告がなされました。一つは脂質のユビキチン化で(Nature 594, 111-116, 2021)、もう一つは、ポリグルコースのユビキチン化です(EMBO J 41, e109700, 2022)。いずれもタンパク質のリジンやメチオニンのユビキチン化でみられるアミド結合ではなく、エステル結合またはオキシエステル結合によるもので、従来法では検出が難しかったものです。この非タンパク質のユビキチン修飾が普遍的に起こっているとしますと、ユビキチン化の概念が大きく変わることになります。また、近年のトピックでもある液-液相分離についても、プロテアソームやp62だけではなく、UBQLN2やNEMOもユビキチン依存的に相分離することがわかってきました。このように、ユビキチン研究は新しい潮流が次々と生まれており、前号の挨拶文で述べたように、さらなる拡大のフェーズに入ったといえます。

本領域においても、出水先生らのデコイ核酸型PROTACやin silicoデザインによる高活性PROTAC、石川先生らの凝集性タンパク質を分解誘導するPROTACなど、領域開始時の提案による研究成果が着実に得られておりますし、山中先生らの近接ビオチン化法によるセレブロン基質の同定法や池田先生らのエステル鎖をもつ分岐型ユビキチン鎖の発見など、公募研究班員による素晴らしい研究成果も得られております。本領域も残り1年ほどでございますが、若手から中堅の先生方のご活躍、ユビキチン研究の拡大による時代の後押しなどを考慮しますと、今後の新しい展開も大きく期待できますので、班員の先生方、関係者の皆様方には、引き続き、ご協力賜りますようお願い申し上げます。

東京都医学総合研究所

佐伯 泰



東京医科歯科大学 難治疾患研究所 准教授に就任

山野 晃史

2022年1月に東京医科歯科大学 難治疾患研究所 機能分子病態学分野（主宰：松田憲之 教授）が新しく開設されました。それに伴い同年4月より東京医科歯科大学 難治疾患研究所 機能分子病態学分野の准教授に着任いたしましたので、この場を借りてご報告させていただきます。2014年にアメリカNIHから東京都医学総合研究所（都医学研）の研究員に着任して、気がつけば7年半が過ぎました。都医学研のユビキチンプロジェクトが丸ごと異動となったので、独立したわけではないのですが、研究環境が変わりますので、心機一転という気持ちだけは溢れております。異動を経験されているケモユビキチン班員の先生方もたくさんおられ、ラボ異動に伴う引っ越し作業が大変であることを聞いておりましたが、全くその通り、大変でした。我々は世田谷区から文京区への異動なので、移動距離としては大したことはありませんが、（例えば深井先生の東京から京都のように）都道府県をまたぐ移動は想像を超えるご苦労であったと改めて思いました。

アメリカNIHへの留学を機に、損傷ミトコンドリアの分解を介した細胞内の品質管理機構を大きなテーマとして研究を続けてきました。ご存知の通り、ミトコンドリアは細胞の生存に必須なオルガネラであり、ATP合成のみならず、アミノ酸や脂質の代謝、カルシウム濃度調節、細胞死に至る種々の役割を担っています。しかし、ある一定の割合でATP合成



写真1 我々の研究室はM&Dタワーの23Fにあります。右隣は東京医科歯科大学病院です。

の副産物として活性酸素種を産生してしまうため、活性酸素種によって障害を受けた損傷ミトコンドリアは細胞にとって有害となります。そこで細胞（特に、分化せず生涯使い続ける神経細胞）は、損傷ミトコンドリアを選択的に除去するシステムを備えています。我々は、この選択的除去にPINK1やParkin（両タンパク質は遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子産物です）が関与することを突き止め、その作用機序を解明してきました。PINK1はユビキチンを特異的にリン酸化するキナーゼであり、Parkinはリン酸化ユビキチンによって活性化するE3であるため、ユビキチン化反応は損傷

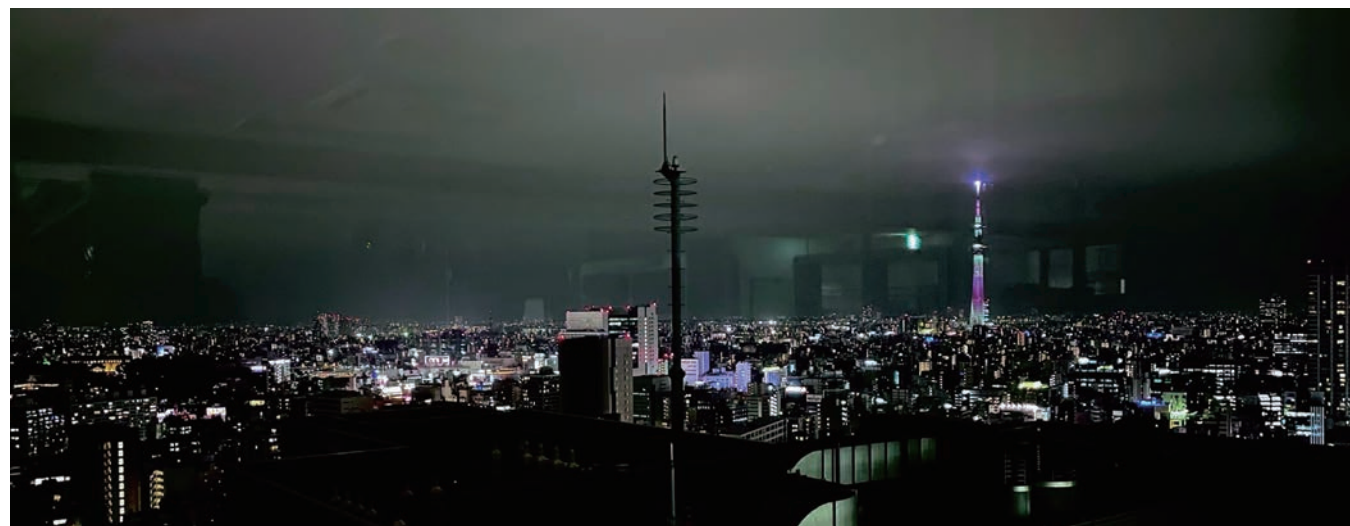


写真2 研究室から望める夜景。スカイツリーもはっきり見ることができます。



写真3 引っ越し直前の医科歯科の研究室の様子。

ミトコンドリア分解の初期過程に必須であります。また、最終的に損傷ミトコンドリアはオートファジー経路で分解されるので、我々の研究はユビキチンとオートファジーのクロストーク解明にも繋がりました。このクロストークの分子機構をケモテクノロジーを利用して解明することができたのも新学術領域に加えていただいたおかげだと感謝しております。現所属になってからは、これまで培ってきた実験手法・解析技術・知識を活かして、さらに幅広く細胞内の品質管理について展開し、それをヒト疾患の理解に繋げていければと考えています。

研究の紹介ばかりでは愛想がないので、この度の引っ越しと東京医科歯科大学に関連する内容を写真付きで紹介したいと思います。引っ越しの準備は12月ごろから徐々にスタートさせてきました。新天地に移動後、なるべく早急に研究ができる体制を整えたかったので、研究の合間を縫って、実験器具の梱包作業などを行っていました。引っ越し本番は3/16日と3/17日でしたが、私が新型コロナウイルス感染の濃厚接触者となってしまい、3/3から1週間自宅待機を余儀なくされるという小さなピンチがありました。幸い私はPCR検査の結果、陰性でしたので、ラボ閉鎖は免れました。

都医学研は世田谷区の静かな環境に立地していますが、東京医科歯科大学はJR御茶ノ水駅に隣接しています。朝の通勤時間帯は駅周辺がサラリーマンで溢れていますが、至る所に飲食店を見つけることができるのでアフターワークは楽しめそうです。研究室はM&Dタワーの23F（写真1）ですの



写真4 引っ越し1ヶ月後の研究室の様子。簡単な実験ならできるようになりました。

で、1Fから23Fまでのエレベーター移動を思うと、威圧感を与えて聳え立っているようにも思えます。ただ、夜の研究室からの眺めはタワーマンションに住む都会人の気分を味わえます。スカイツリーも綺麗に眺めることができます（写真2）。引っ越し直前はガラとした研究室（写真3）も1ヶ月もすれば、見慣れた風景に変わっていきました（写真4）。

ケモユビキチンも残りわずかとなりましたが、4月から新しいメンバーも加わりました（写真5）ので、精一杯精進させていただきます。今後ともどうぞよろしくお願いいたします。



写真5 研究室メンバーの集合写真。

AlphaFold2 の紹介

昨年末に山野さんからタンパク質構造予測ソフトウェアAlphaFold2に関する記事依頼を受けました。内容は、実際の使い方、試してみた結果と感想、利用する際の注意点など何でもよいということでしたので思いのままに書き連ねてみます。

AlphaFold2とは？

特集記事としてあちらこちらで解説がされていますが、化学同人の月刊誌「化学」の2022年2月号に掲載されている森脇由隆さん（東京大学大学院農学系研究科助教）の解説記事が非常によくまとまっています。その記事では、「AlphaFold2 はこれまで積み上げられてきた実験データをもとに、機械学習・深層学習を取り入れることでアミノ酸配列からの立体構造予測を非常に高精度で達成した」と紹介されています。「非常に高精度」というのは、「第14回タンパク質構造予測精密評価（Critical Assessment of protein Structure Prediction; CASP14）コンテストにおいて、予測対象のタンパク質全体の88%について非常に精度よく予測がなされ、全体の64%について結晶構造解析で求めた構造と同一と見なしてよいレベルで一致していた」という結果から判断されていることは頭の片隅に入れておいてもよいかもしれません。森脇さんは、AlphaFold2のプログラムが公開されてから即座にソフトウェアのインストールを試み、インストール方法から利用方法までの情報を広く公開しています（https://qiita.com/Ag_smith）。自前の解析環境を整備したい方には必読のサイトです。AlphaFold2は、情報科学、化学、物理学、生物学など多様な専門分野の研究者で構成される開発チームによって生み出されたものであり、中でのどのようなことが行われているかを理解することは非常にハードルが高いですが、匿名のブログ（horomaryさんのHatenaブログ；<https://horomary.hatenablog.com/entry/2021/10/01/194825>）の記事が比較的わかりやすく解説されていると感じましたので紹介しておきます。

AlphaFold2の使い方

すでにご存じの方も多いと思いますが、AlphaFold2を開発したDeepMind社とEMBLのEuropean Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) が共同でAlphaFoldデータベース（<https://alphafold.ebi.ac.uk/>）を開発しているので、研究でよく利用されている生物の持つほとんどのタンパク質の予測構造は検索してダウンロードするだけで利用できます。2022年にはUniProtに登録されている大部分のタンパク質（1億種類以上）の立体構造が登録される計画のようなので、自身でAlphaFold2を使って予測する機会は少なくなるかもしれません。

AlphaFold2によって高精度にタンパク質の立体構造が予測できるようになったわけですが、多くの場合において最終的に知りたいことは、「タンパク質の立体構造そのもの」よりは、「リガンドとの相互作用やそれに伴って誘起される構造変化」なのではないかと思います。また、この新学術領域の研究であれば、ユビキチン化のような翻訳後修飾の影響も知りたいはずです。あるいは、ある病気の原因となる一か所のアミノ酸変異が立体構造に与える影響を知りたいかもしれません。現状としては、これらの要望にAlphaFold2は応えることはできません。例外として、リガンドがタンパク質の場合、すなわち、タンパク質複合体の立体構造予測に関しては、類似の複合体の既知構造がデータベースに存在すれば比較的正しいような結果を出せる印象です（※定量的に評価したわけではありません）（図1）。DeepMind社は想定していなかったようですが、上述の森脇さんが、（複合体の結晶構造が既知の）相互作用する二つのタンパク質を30残基程度のリンカーで人為的につないだ配列をAlphaFold2に入力したところ、複合体の立体構造が比較的精度良く予測されました。この発見を発端としてAlphaFold2に複合体予測のオプションが実装されました。AlphaFold2による複合体予測の結果はデータベース化されていないので、立体構造を知りたい複合体は自身で計算する必要があります。この時に便利なのがGoogle Colaboratory (Colab) です。本家DeepMind社のサイト

深井 周也（京都大学大学院理学研究科化学専攻 教授）

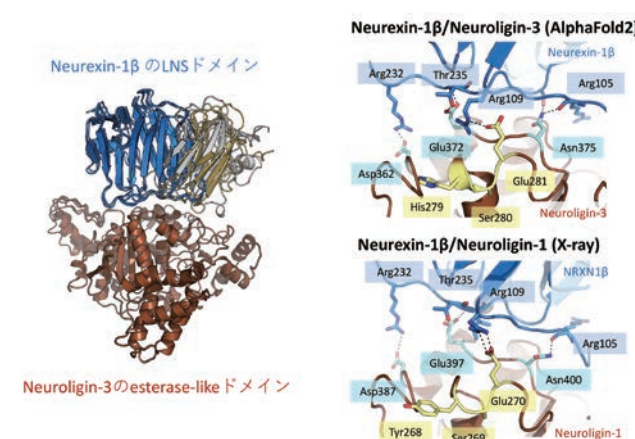


図1. AlphaFold2による複合体構造予測の例
Neurexin-1 β のLNSドメインとNeuroligin-3のesterase-likeドメインは、それぞれの結晶構造はPDBに登録されているが、複合体の立体構造は不明。ただし、Neurexin-1 β とNeuroligin-1の複合体の結晶構造はPDBに登録されている。AlphaFold2が生成した5つのモデルのうち、上位3つのモデル（青）は概ね一致。下位2つのモデル（白と黄）は異なっている（左図）。上位のモデルの一つでは、残基間の相互作用も正確に予測されているように見える（右図）。

(AlphaFold Colab; <https://colab.research.google.com/github/deepmind/alphafold/blob/main/notebooks/AlphaFold.ipynb>) のものもありますが、配列解析の専門家であるMartin Steineggerさん（ソウル国立大学）やSergey Ovchinnikovさん（ハーバード大学）らのグループがより洗練された方法で複合体予測を再実装したColab Fold（<https://colab.research.google.com/github/sokrypton/ColabFold/blob/main/AlphaFold2.ipynb>）の方が高速かつ高精度で使い勝手が良いようです。立体構造を予測したい複合体を構成するタンパク質のアミノ酸配列を：（コロン）で区切って入力するだけで複合体の立体構造モデルが出力されます。ホモオリゴマーの場合は、同じ配列をオリゴマーの数だけ：で区切って入力すればオリゴマーの立体構造を予測してくれます。ただし、Colabの利用には制限があり、大抵は合計1,000残基までの複合体しか許容されませんし、計算に時間がかかるとタイムアウトして計算が

途中で打ち切られます。その場合は最初からやり直しになります。私の経験では、計算が確実に終了するのは合計で800残基くらいまでの印象です。800残基以上の場合は、結合ドメインだけを抜き出すなどして入力するアミノ酸残基の数を減らす必要があります。これらの制限はGoogle側の計算機設備に依存するので、計算に割り当てられるGPU（※利用者のパソコンのGPUではありません）のメモリ量が増えたり、計算速度が向上すれば、残基数の上限は上がるかもしれません。

AlphaFold2のインストール

Colabを利用して計算ができなくても、自前の解析環境を整備すれば計算できる場合があります。Linux環境で何らかの解析ソフトをインストールした経験がないとハードルが高いかもしれませんが、近くに詳しい人がいれば相談してみてください。参考までに必要な計算機のスペックを示しておきます。

- NVIDIA製のGPUカード（安価でメモリの多いRTX3060がオススメです。一般的なGPUカードの中ではRTX3090がメモリが最も多いのでベストです）
- 4 TB以上のSSDストレージ（インターフェースはM.2が最適ですがシリアルATAでも問題ありません）

CPUは最新のIntel Core iシリーズやAMDのRyzenシリーズ以上、メモリは32 GB以上（できれば64 GB）であれば問題ないと思います。私の研究室では、クライオ電顕解析用に三年ほど前に導入したワークステーション（Intel Xeon W-2123 3.60 GHz, メモリ64 GB, NVIDIA GeForce RTX 2070, SSD 500 GB）に、故障したワークステーションから抜き出してあったシリアルATAのSSD 1 TB 3枚でRAID 0を組んだもの（計3 TB）を追加して、AlphaFold2用の計算機としました。AlphaFold2では高精度の多重配列アラインメントを行うために膨大な配列データを用います。その他のデータも含めて合計2.5 TBのデータを自前の環境にダウンロードする必要があるのか、かなり時間がかかります。1日では終わらないと思っていただいた方がよいです。所属されている組織によっては、大容量の

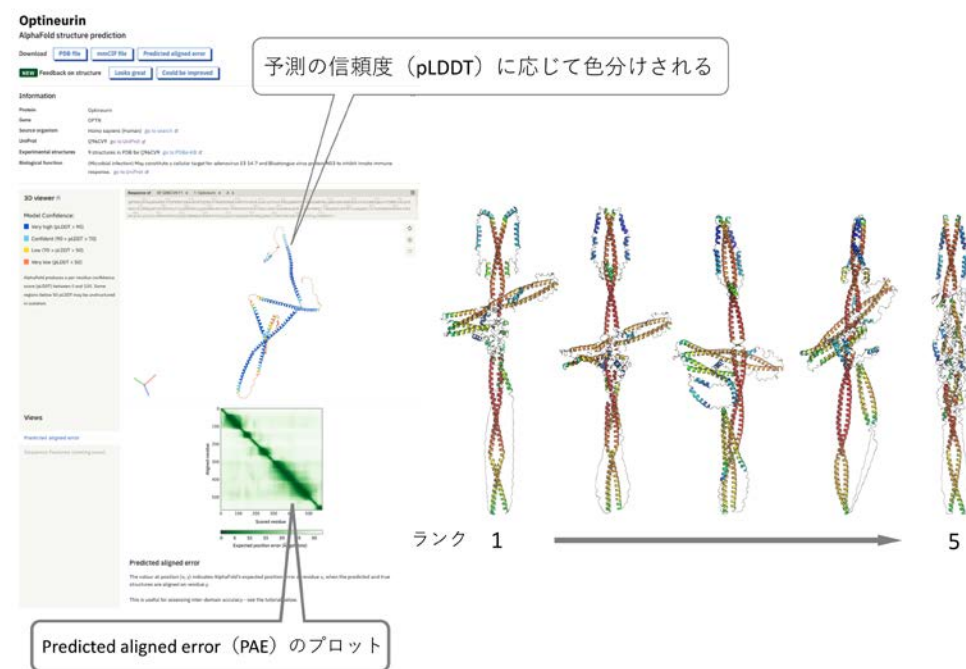


図2. AlphaFold2によるホモ二量体の構造予測の例

ヒトOptineurinの部分構造はホモ二量体のコイルドコイルとしてPDBに登録されているが、全長構造は不明。AlphaFoldデータベースでは単量体構造なので二次構造予測程度の情報しか得られない(左図)。ホモ二量体として予測するとあたかも実験的に決定したようなコイルドコイル構造が予測されるが、多様な構造が出力される(右図)。PyMOLで温度因子に基づいた色付けを行うと、pLDDTが高い領域を赤色、低い領域を青色とするグラデーションで表示される。

データの転送に制限が設けられている場合もありますので、その点もご注意下さい。

AlphaFold2の注意点

AlphaFold2を利用する際の注意点は、上海老師の名前で活動している中国・復旦大学の某教授がnote(個人の経験やノウハウを配信するウェブサイト)にまとめています(<https://note.com/hattorim2/>)。第1回の「予測の良し悪しの判断」では、AlphaFold2が出力した予測構造の評価方法がわかりやすく記述されています。予測構造における各アミノ酸残基の信頼度(pLDDT)は、出力されたPDBファイルの温度因子の列に書き込まれており(一番右の数値)、AlphaFoldデータベースで表示される立体構造では信頼度の高低を色温度で示しています(高いと青白っぽく、低いとオレンジっぽい)(図2)。PyMOLなどの分子構造表示ソフトでは温度因子(の列に記入されている値)が高いほど赤く、低いほど青く表示され、AlphaFoldデータベースの色合いと逆になりますのでご注意下さい。信頼度と同様

に重要な指標にPredicted aligned error (PAE)があります(図2)。アミノ酸残基間の距離の推定誤差を示すもので、AlphaFoldデータベースでは予測構造の下に表示されています。緑で示されているアミノ酸残基の組合せでは、残基間距離はほぼ一定で固定されており、白で示されているアミノ酸残基の組合せでは残基間距離が大きく変動することを意味します。例えば、左上と右下を結ぶ対角線上に緑の正方形が二つ並ぶようなPAEプロットを示すタンパク質は、二つのドメインを持ち、それらのドメインが独立に動いて相対配置が変化することが示唆されます。

天然変性領域(intrinsically disordered region; IDR)は、AlphaFold2ではpLDDTが低いループ領域として予測されます。これはAlphaFold2の予測精度の高さを示すものとも言えますし、特定の領域の機能を考える上でも重要な手がかりとなると思います。基本的には単量体タンパク質の構造予測でIDRも含めて計算することは意味のあることだと考えます。一方、複合体の構造予測ではIDRが不自然に見える相互作用を示すことがあり、これが複合体構造予測の妨げになっている印象です(※非常に個

人的な感想)。IDRを除いて予測するのが簡単ですが、実際にはIDRの一部が相互作用に関与している可能性もあるので、結合に必要な最小領域を実験で決め、その領域だけを複合体構造予測にかけると良い解決策ではないかと思っています。複合体ではありませんが、一回膜貫通型の膜受容体のように細胞外領域と細胞内領域のそれぞれに機能ドメインが存在する場合には、細胞内領域と細胞外領域が相互作用している予測構造が出力されることがあります(図3)。この場合でも、細胞内領域と細胞外領域はそれぞれ分けて計算するのがよいと思います。

最後に

AlphaFold2によってタンパク質単独の立体構造を高精度で予測できるようになったことはエポックメイキングな出来事です。ただし、その予測方法は、物理化学の法則のみに基づいた、所謂、第一原理的な計算に基づくものではありません。タンパク質のフォールディング問題は本来の意味

では解決していません。また、本質的に重要な領域、例えば、機能状態に応じて主鎖や側鎖のコンフォメーション変化が生じる領域などは、高いpLDDT値を示したとしても間違っている例も多く、PDB登録数の多いコンフォメーションに偏った予測がなされたりします。AとBの二つの異なる状態が知られているタンパク質の立体構造を予測した際に、ある領域はAの状態、別の領域はBの状態といったようなキメラ構造として予測される例もあるようです。現在では、タンパク質単独の立体構造情報は、それだけではあまり意味のあるものとは見なされず、上述した例のように「リガンドとの相互作用とそれに伴って誘起される立体構造変化により、どのように機能が発現しているかを理解できる立体構造情報」が重要です。その情報を得るには、実験的に立体構造を解析するしか方法はありません。タンパク質の構造機能相関を理解する上でAlphaFold2は重要なヒントを与えてくれますが、答えを示すものではないということを、最後にお伝えしておこうと思います。



図3. AlphaFold2による膜受容体の構造予測の例
ヒトEGFR全長の予測構造。PAEプロットは、細胞外領域が複数のドメインで構成されていること、また、ドメイン間に弱い相互作用があることを示唆している。細胞内領域の一部が細胞外領域のドメイン境界に入り込んだような構造になっているために全体として違和感のある構造になっている。

エストロゲン受容体を標的とした デコイ核酸型 PROTAC の開発

永沼 美弥子 (横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 博士後期課程 1 年)

出水 庸介 (国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部長)

発表論文:

Development of Chimeric Molecules That Degrade the Estrogen Receptor Using Decoy Oligonucleotide Ligands. Miyako Naganuma, Nobumichi Ohoka, Haruna Tsujimura, Kenji Matsuno, Mikihiro Naito, Takao Inoue, Genichiro Tsuji, Yosuke Demizu

ACS Medicinal Chemistry Letters 13, 134-139 (2022)



背景

様々な疾患の発症に関与する標的タンパク質が解明され、それらを標的とした多様な創薬手法が開発されてきた。その中でも近年、PROTAC (Proteolysis-Targeting Chimera) に代表されるケミカルプロテインノックダウン法を利用した創薬研究が盛んに行われている。PROTACは、疾患関連タンパク質 (POI) を生体内のタンパク質分解機構であるユビキチン-プロテアソームシステム (UPS) によって分解誘導できる。現在、国内外で精力的に開発されているPROTACであるが、標的とすることが困難なタンパク質も存在する。例えば、重篤な疾患に関与する転写因子 (TF) は、最適ナリガンドが存在しないものも多く、従来の低分子型PROTACデザインが困難である。

そこで本研究では、汎用性のあるTF標的PROTAC開発を行うために、POIリガンドにデコイ核酸 (DNA) を用いた手法を開発した (図1)。デコイ核酸

をPOIリガンドとして使用できれば、TFに結合するDNA配列をベースとしてPROTAC設計が容易になると考えた。本コンセプトを証明するために、核内受容体スーパーファミリーの一員であるエストロゲン受容体 α (ER α) をTFのモデルとしたデコイ核酸型PROTACを設計・合成し、活性評価を行なった。

結果

はじめに、ER α を標的としたデコイ核酸型PROTACの設計を行なった。具体的には、ER α およびエストロゲン応答配列 (DNA) の共結晶X線構造を基に21塩基のデコイ核酸 (ER (dec)) を設計し、その5'末端をアルキン修飾したDNAを合成した。また、E3リガーゼリガンドには、汎用されている3種類のリガンド (LCL、VH、Pomalidomide) を選択し、それぞれにアジド化PEGリンカーを導入した分子を合成した。これらを、銅触媒を用い

たクリック反応によって連結し、LCL-ER (dec)、VH-ER (dec)、POM-ER (dec) の3種類のPROTACを合成した (図2A)。

次に、各PROTACのER α 結合活性を評価するため、競合的な蛍光偏光アッセイにより評価した。その結果、ER (dec) は、IC₅₀=39.4 nMでER α に結合し、また、各PROTACはER (dec) と同等のER α 結合活性を示した (LCL-ER (dec) : IC₅₀ = 31.2 nM、VH-ER (dec) : IC₅₀ = 42.7 nM、POM-ER (dec) : IC₅₀ = 52.6 nM) ことから、デコイ核酸のPROTAC化はER α 結合活性に対し顕著な影響を与えないことが示唆された。

続いて、各PROTACのER α に対する分解活性について乳がん細胞株MCF-7細胞を用いたウェスタンブロットング法によって評価した。化合物をトランスフェクション後、24時間インキュベートし、タンパク質の発現量を定量した結果、3種類のPROTACの中で、LCL-ER (dec) が最も高い分解活性を示し (図2B)、また、ER α を選択的に分解することが示唆された (図2C)。さらに、LCL-ER (dec) によるER α 分解がUPSを介したものであるかを確認するため、プロテアソーム阻害剤 (MG132) およびユビキチン (E1) 活性化酵素阻害剤 (MLN7243) を用いたウェスタンブロットを行った。阻害剤共添加時にはER α のタンパク質レベルが減少しなかったことから、LCL-ER (dec)

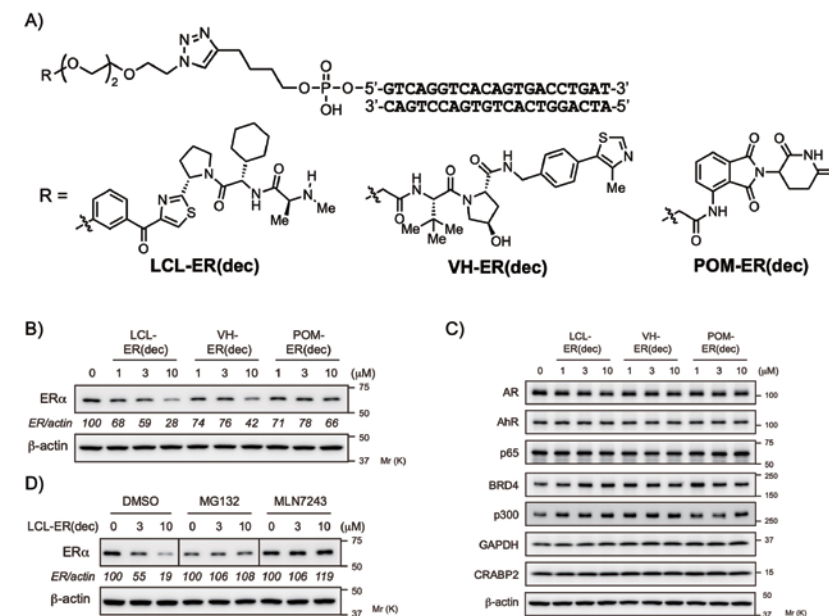


図2. (A) 設計・合成したPROTAC (LCL-ER (dec)、VH-ER (dec)、POM-ER (dec)) の化学構造。(B) LCL-ER (dec)、VH-ER (dec)、POM-ER (dec) によるER α 分解活性評価 (トランスフェクション試薬Lipofectamine RNAiMAXにより細胞内へ導入)。(C) ER α 以外のタンパク質 (TF等) への影響評価。(D) ER α 分解のメカニズム解析。

は、期待通り、UPSを介してER α を分解していることが示唆された (図2D)。

最後に、ER α シグナル伝達に対しての影響を評価した。レポーター遺伝アッセイにより、LCL-ER (dec) はデコイ核酸単体と比較して、ER α 依存性の転写活性化を有意に阻害したことが明らかとなった。また、細胞増殖抑制評価より、LCL-ER (dec) によってER α 陽性乳がん細胞株MCF-7細胞の増殖が抑制されたことが示された。

以上、本研究ではTFのひとつであるER α をモデルとしたデコイ核酸型

PROTACを開発した。本研究で提案したデコイ核酸型PROTACによって、標的とすることが可能なタンパク質の拡大が期待できる。今後は、核酸の修飾等により、PROTAC単体での細胞内導入を目指した分子設計を目指していきたい。

今後の展望

本研究は、修士からの研究テーマとしてご提案頂き、一から合成・評価系を立ち上げました。初めは、核酸分子を合成する設備もなく、取り扱い方法もわからない上に、評価系の構築にはかなりの時

間を費やし、もどかしさを感じる時もありました。しかし、初めてER α 分解活性を確認できた時には、今までにない高揚感を感じたことを鮮明に覚えています。今回、無事に一報まとめることができ、さらには、Supplementary Journal Cover (図3) に採択して頂きましたことは、ひとえに共著の先生方によるご助言があったからこそと感謝しております。特に、国立衛研大岡伸通室長には化合物の評価にあたり、多大なるご助力を賜りましたことに厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行にあたりご指導いただきました、国立医薬品食品衛生研究所 出水庸介部長、辻厳一郎主任研究官、東京大学 内藤幹彦教授をはじめ、御指導、御支援を賜りました多くの先生方にこの場を借りて御礼申し上げます。

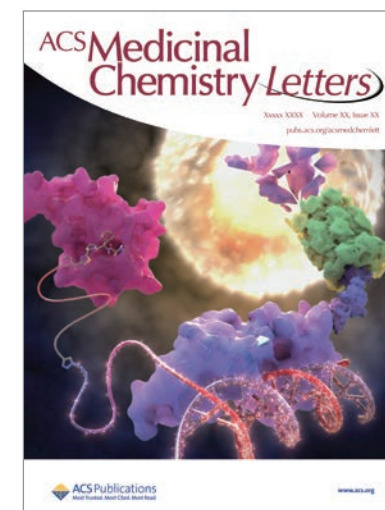


図3. ACS Medicinal Chemistry LettersのSupplementary Journal Cover。

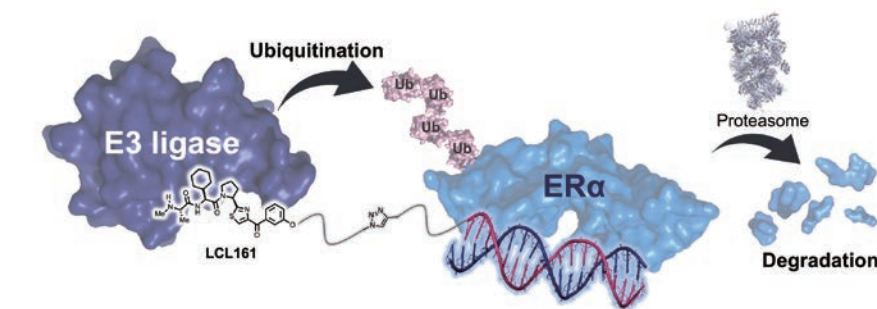


図1. デコイ核酸型PROTACによるER α の分解誘導。

In silico デザインを活用した強力で選択的なH-PGDS 標的 PROTAC の創出

横尾 英知 (京都府立医科大学 医系化学 助教)、出水 庸介 (国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部長)

発表論文:

Discovery of a highly potent and selective degrader targeting hematopoietic prostaglandin D synthase via in silico design. [Hidetomo Yokoo](#), Norihito Shibata, Akinori Endo, Takahito Ito, Yuta Yanase, Yuki Murakami, Kiyonaga Fujii, Kengo Hamamura, Yasushi Saeki, Mikihiro Naito, Kosuke Aritake, Yosuke Demizu
Journal of Medicinal Chemistry 64, 15868-15882 (2021)



背景

革新的医薬品モダリティの一つとして期待されるPROTACs (Proteolysis Targeting Chimeras) やSNIPERs (specific and non-genetic IAP-dependent protein erasers) は、ユビキチン・プロテアソームシステム (Ubiquitin-Proteasome System, UPS) を利用して、疾病関連タンパク質を分解し、その機能を抑制する。PROTACは、分解過程においてユビキチンリガーゼ (E3) と標的タンパク質との三者複合体を形成し、ポリユビキチン化およびプロテアソームによる分解を誘導する。三者複合体の形成段階は分解効率を決める因子の一つと考えられるため、三者複合体の構造情報に基づくPROTACの開発や最適化が行われている。その中でもX線結晶構造情報は、強力な戦略的なPROTACの設計に応用されている。しかしながら、X線解析のためには安定な三者複合体を形成できるPROTACが必要であり、さらに、良質な結晶を獲得するには、相応の技術と労力を要する。一方で、それぞれのリガンドとタンパク質の共結晶

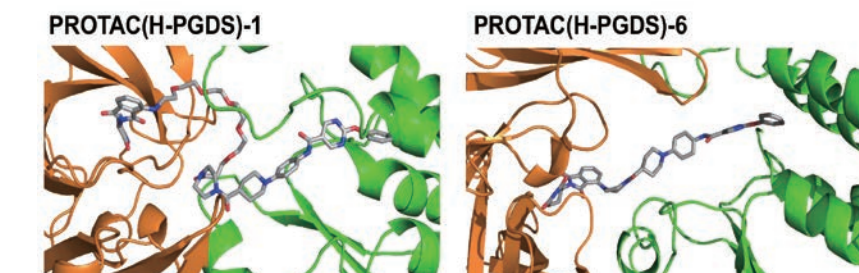


図1. PEG5リンカーのPROTAC (H-PGDS)-1 (左)、リンカーを持たないPROTAC (H-PGDS)-6 (右)とCRBN (橙色)、H-PGDS (緑色)との三者複合体を化学計算した結果、どちらも妥当な三者複合体が得られた。

構造を基にした三者複合体の分子モデリングによる構造予測は、高活性なPROTACデザインに適用しうる。

これまでに我々は、造血器型プロスタグランジンD合成酵素 (H-PGDS) を標的としたPROTACを世界に先駆けて報告した。H-PGDSはデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の治療標的として着目されている。DMDは、X染色体上に存在するジストロフィン遺伝子の変異によって引き起こされる遺伝性の筋疾患である。男児の約3500人に1人の割合で発症し、患者の多くは30歳以前に呼吸不全や心不全で死亡する。DMDの治療法には、主にジストロフィンの量を回復さ

せる治療法 (エクソン・スキップ治療) と、病態を抑制して筋肉の質を維持する治療法の2種類がある。DMD患者の損傷骨格筋において発現するH-PGDSは、PGD2を過剰に産生し、PGD受容体を介した炎症を引き起こす。H-PGDSの機能を抑制する「質」的な治療法は有用となりうるものの、阻害剤は臨床試験において十分な効果が得られていない。H-PGDS分解誘導剤は新たな作用機序を有する治療薬として期待される。本研究では、分子モデリングを用いて、H-PGDS標的PROTACを効率的に設計・合成し、分解活性の向上およびDMD治療薬としての有用性を検討した。

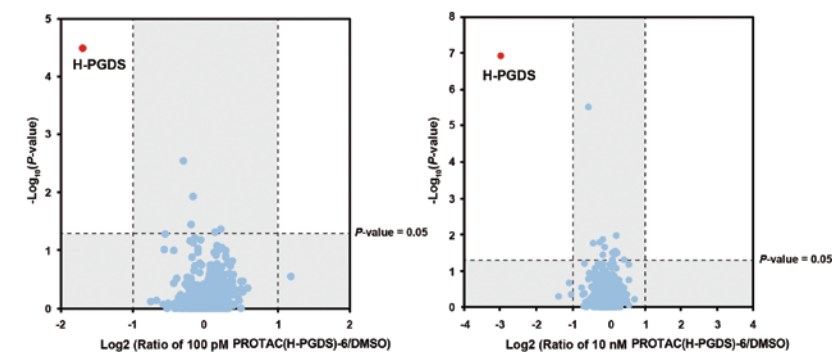


図3. PROTAC (H-PGDS)-6はH-PGDSタンパク質を選択的に減少させる。PROTAC (H-PGDS)-6を100 pM(左)、10 nM(右)添加し、プロテオーム解析によりタンパク質の発現量を測定した結果、H-PGDSタンパク質のみ減少した。

結果

これまでに開発したPROTAC (H-PGDS) -1は、TFC-007 (H-PGDS阻害剤) とポマリドミド (セレブロン (CRBN) リガンド) がPEG5リンカーを介して結合した構造を有する (Yokoo H, et al. *ACS Med. Chem. Lett.* 2021, 12, 236-241)。そこで、化学計算ソフトウェアMOE (MOLSYS社) を用いて、リンカー長が異なるPROTACとH-PGDS及びCRBNとの三者複合体の安定構造

を分子動力学 (MD) によって解析した。その結果、リンカー構造を持たないPROTAC (H-PGDS) -6においても妥当な三者複合体が得られた (図1)。

そこで設計したPROTACを合成し、得られた化合物のH-PGDS分解をウェスタンブロットにより評価した (KU812細胞)。その結果、リンカーが短くなるにつれてPROTAC (H-PGDS) sのH-PGDS分解活性が上昇した (図2)。その中でも、リンカーを持たないPROTAC (H-PGDS) -6は最も強い分解活性を示した (DC₅₀

= 17.3 pM)。また、H-PGDSタンパク質の減少は、プロテアソーム阻害剤またはユビキチン活性化酵素阻害剤の共添加により抑制されたことから、PROTAC (H-PGDS) -6はユビキチン・プロテアソームシステムを介してH-PGDSを分解していることが示唆された。

PROTAC (H-PGDS) -6のH-PGDS分解に対する選択性を検討するため、タンデムマスタグを用いたプロテオーム解析を遠藤先生、佐伯先生に行っていただいた。その結果、8184個のタンパク質が検出され、PROTAC (H-PGDS) -6の添加によるH-PGDS以外のタンパク質の減少は観測されなかった ($P < 0.05$, log2 ratio < 1)。特に、他のプロスタグランジン合成酵素 (PTGES2, PTGES3, AKR1B1) やCRBN結合タンパク質 (IKZF1, IKZF3, ARID2, GSPT1, CSNK1A1) においても減少が見られず、PROTAC (H-PGDS) -6は高選択的にH-PGDSタンパク質を分解することが明らかとなった (図3)。

最後に*in vitro*におけるPGD₂産生抑制効果の評価およびDMDのモデルマウスを用いた*in vivo*評価を行った。KU812細胞を用いてPGD₂の産生量を測定した結果、阻害剤 (TFC007) と比較して、PROTAC (H-PGDS) -6はより効果的にPGD₂産生を抑制した。*In vivo*評価では、甲状腺ホルモン処理により心肥大が誘導されたmdxマウスに対し、PROTAC (H-PGDS) -6を皮下投与し、TNF α 、IL-1 β 、TGF β 1、CD11bのmRNA発現量を指標に抑制効果を評価した。その結果、PROTAC (H-PGDS) -6の添加により、各々のmRNA発現量が抑制され、DMDに対する有用性が示唆された (図4)。

これまでに開発されたPROTACは分子量が大きく、回転可能結合数が多いなど薬らしいとは言い難い。一方で、リンカーを除去したPROTAC (H-PGDS) -6は、他の誘導体と比較して分子量、回転可能結合数が小さく、薬らしい観点から優れる。本分子はリンカーを除去する

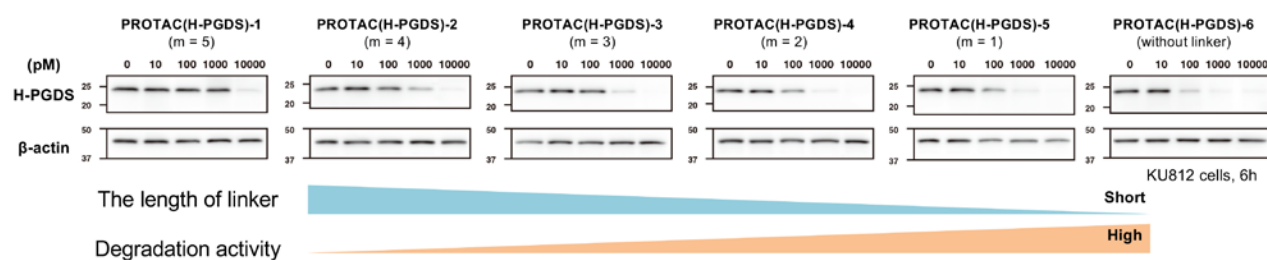


図2. PROTAC (H-PGDS) sの分解活性をウェスタンブロットにより評価した結果、各化合物は濃度依存的にH-PGDSタンパク質を減少させ、リンカーが短いほど高い活性を示した。

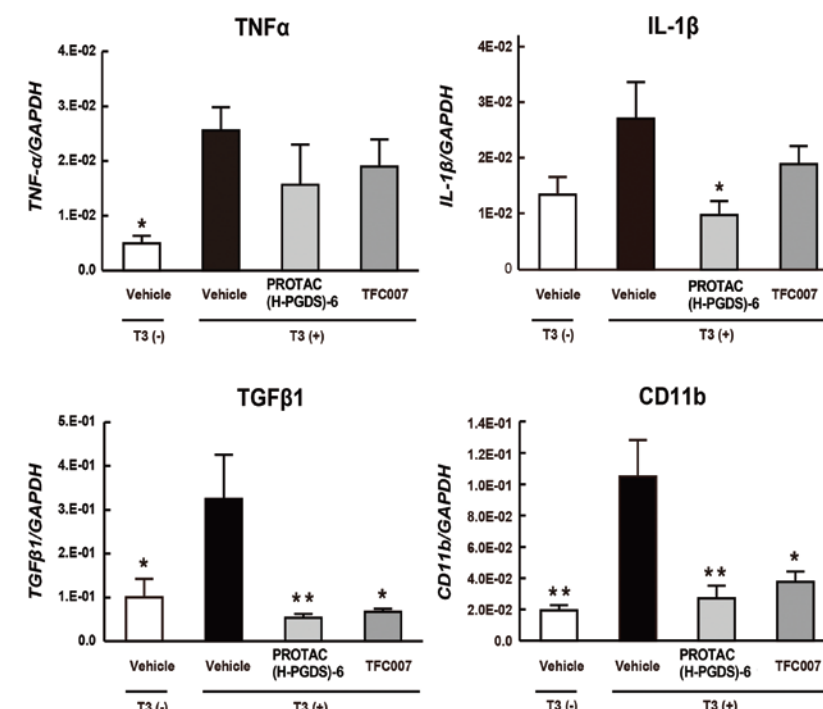


図4. PROTAC (H-PGDS) -6はDMDモデルマウス (mdxマウス) においてH-PGDS阻害剤 (TFC-007) に比べて優位にサイトカインを抑制する。

新たな設計の有用性を示し、医薬品候補化合物として期待される。

今後の展望

研究の遂行には、いくつかのハードルがあり、問題に直面する度に本領域の先生方を含め多くの方々からご助言、ご支援を賜り、論文を完成させることができました(図5)。中でも印象深い場面は、最も活性の高いPROTAC (H-PGDS) -6のウエスタンブロットの結果を得た時です。非常に高い活性を示す結果が得られたことに嬉しくもあり、「本当に正しいデータなのだろうか」と疑いも混じりながら興奮したことを覚えています。そうした中、親身かつ冷静にご助言してくださり、洗練された技術で多くを検証してくださった国

立衛研 柴田識人室長のお力添えなしでは完遂しえなかった研究です。本研究により得られた化合物は、世界的に見ても高活性なPROTACのひとつであり、今後、さらに拡大するユビキチン研究分野において、優れた化合物と共に新たなスタートラインに立てたことを幸運に思います。

最後になりましたが、本研究を進めるにあたりご指導いただきました、国立医薬品食品衛生研究所 出水庸介部長、柴田識人室長、第一薬科大学 有竹浩介教授、藤井清永教授、東京大学 内藤幹彦教授、東京都医学総合研究所 佐伯泰プロジェクトリーダー、遠藤 彬則主任研究員をはじめ、御指導、御支援を賜りました多くの先生方にこの場を借りて深く御礼申し上げます。



図5. J. Med. Chem.に掲載された際のSupplementary cover。

ドラッグライクネスに焦点を当てた変異ハンチンチン分解PROTAC から低分子化合物・疎水性タグへの展開

平井 景梧 (東北大学大学院生命科学研究所 博士課程前期2年)

発表論文:

Conversion of a PROTAC Mutant Huntingtin Degrader into Small-molecule Hydrophobic Tags Focusing on Drug-like Properties

Keigo Hirai, Hiroko Yamashita, Shusuke Tomoshige,* Yugo Mishima, Tatsuya Niwa, Kenji Ohgane, Mayumi Ishii, Kayoko Kanamitsu, Yui Ikemi, Shinsaku Nakagawa, Hideki Taguchi, Shinichi Sato, Yuichi Hashimoto, and Minoru Ishikawa*

ACS Med. Chem. Lett. 13, 396-402 (2022)



背景

アルツハイマー病など一部の神経変性疾患では、患者の脳組織において凝集性の変性タンパク質の蓄積が認められ、これが発症原因と考えられている¹。ポリグルタミン病の1つであるハンチントン病は、ハンチンチンをコードするHTT遺伝子のCAG反復配列における変異によって引き起こされる優性遺伝疾患であり、CAG反復配列が35を超えるとハンチンチンタンパ

ク質Httが凝集しやすくなり発症に至る²。βシート構造に富んだ変性状態の変異型ハンチンチン (mHtt) タンパク質は、互い

に相互作用することで神経細胞内において凝集し蓄積する。このような凝集体、特に中程度に凝集した可溶性オリゴマーが



図1. 神経変性疾患の発症メカニズム

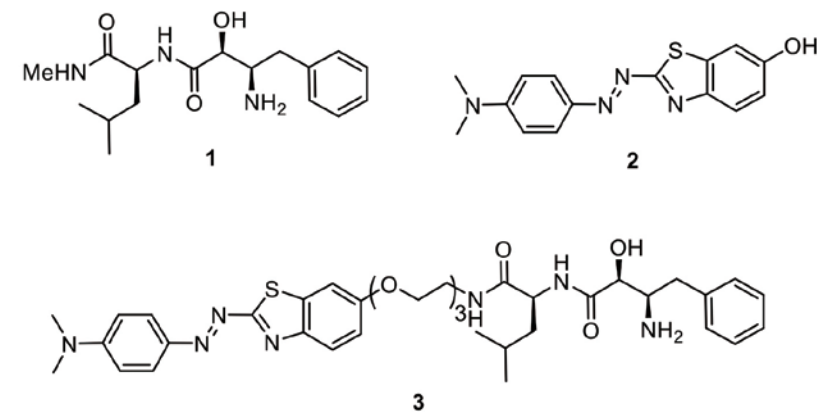


図2. PROTAC 3の構造

神経細胞に対して高毒性を発揮することで細胞が死に至り、認知機能や運動機能の低下など様々な症状が現れ、患者は発症から15-20年で死に至る(図1)³。こうした凝集タンパク質は、その毒性がタンパク質の本来の機能に由来しないため、機能阻害薬では対処できない事が課題となっている。

タンパク質の機能制御の手法の一つに、低分子化合物を用いたケミカルノックダウン技術がある。標的タンパク質のリガンドとE3ユビキチンリガーゼのリガンドを連結した低分子・PROTAC (PROteolysis TArgeting Chimera) を用いたケミカルノックダウン技術は、近年注目を集めているタンパク質機能制御技術の1つであり、ユビキチン-プロテアソーム系を利用して標的タンパク質を分解することが可能となる。当研究室の友重らは、同技術をmHttに対して適用することで既存の創薬技術の課題を解決できると考え、E3リガーゼcIAP1のリガンド1と凝集タンパク質のリガンド2を連結したPROTAC 3を用いて凝集タンパク質のノックダウンに成功している(図2)⁴。しかし、2つの低分子リガンドを連結した低分子PROTACであっても、総じて分子量が大きくなりやすく、また極性表面積も大きくなりやすいことから細胞膜透過性に乏しいことが危惧される。特にハンチントン病の原因となる凝集タンパク質は、患者の脳組織の神経細胞内に蓄積し細胞毒性を発揮している。よって化合物3を患者の脳に移行させ凝集タンパク質に

作用させる必要があり、そのためには化合物が血液-脳関門 (Blood Brain Barrier, BBB) を通過しなければならない。BBBは脳の微小血管に局在し、細胞間の密着結合や血液への排出トランスポーターとして働くP糖タンパク質 (P-glycoprotein, P-gp) によって脳組織へ透過できる化合物を選別している。BBBを通過するためには化合物が適度な脂溶性を持ち、水素結合受容体/供与体の数を抑え、化合物の分子量を小さくすることが求められる⁵。友重らが見出したPROTAC 3はいずれの条件も満たしておらず、BBB透過性が非常に低い事が予想された。またBBB透過性に限らず、PROTACの細胞膜透過性における課題を解決するために、別のコンセプトで標的タンパク質を分解誘導することが求められていた。

戦略

PROTACとは別のアプローチで標的タンパク質を分解誘導する手法の1つに、疎

水性タグ化合物 (HyT) を用いた疎水性タグ法が報告されている⁶。標的タンパク質のリガンドと疎水性構造を連結させたHyTは、標的タンパク質の表面に疑似的な疎水性構造を作り出し、これをタンパク質の変性と認識したタンパク質品質管理機構によって分解させる手法である。HyTの疎水性構造の認識には分子シャペロンであるheat shock protein 70 (HSP70) やU-Box型のE3ユビキチンリガーゼCarboxy terminus of Hsp70-interacting protein (Uniprot) が関与していると考えられている(図3)⁶。疎水性構造として最も頻繁に利用されているアダマンチル基は、E3リガンドよりも低分子量かつ疎水性が高いことから疎水性タグ法は中枢薬により適していると考えた。以上を踏まえ本研究では、疎水性タグ法によって凝集性タンパク質をノックダウンさせ、中枢移行性を有する凝集性mHtt分解薬の創出を目指した(図4)。

結果

mHttに対するリガンドについてはPROTAC 3と同じプローブ2を採用し、ポリエチレングリコールリンカーを介してアダマンタンと連結した疎水性タグ化合物HyT 4を設計・合成した。Hela細胞に対してトランスフェクション法を用いてmHtt-exon1-Q145-EGFP (グルタミン配列が145回反復されたmHttのexon1領域と蛍光タンパク質の融合タンパク質) を発現させ、分解誘導活性を評価した。なお、mHttのexon1に含まれるポリグルタ

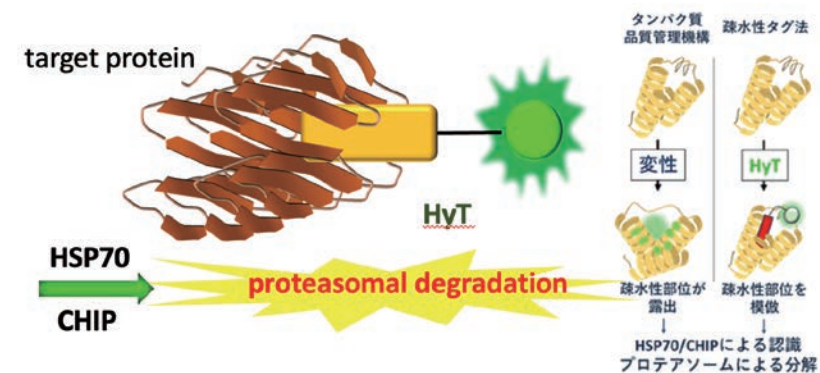


図3. 疎水性タグ法の作用機序

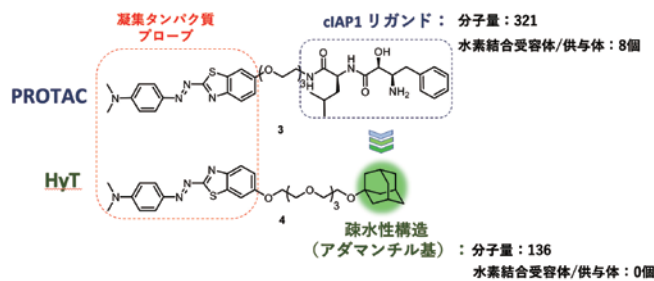


図4. PROTAC 3と疎水性タグ化合物 4の物理化学的特徴の比較

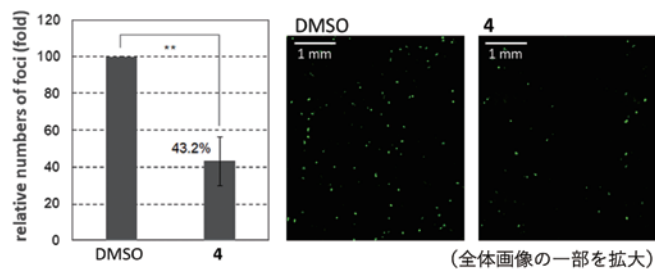


図5. HyT 4処理によるmHtt凝集体減少
n=3, **: p < 0.01, student t検定

ミン配列の反復回数とmHttの凝集のしやすさは関連するため、145回反復している本タンパク質は凝集しやすく、モデルとして適している。化合物処理24時間後、ライセートのGFP蛍光強度を測定（GFP定量法）した結果、10 μ Mの化合物4処理によってGFP蛍光強度の低下が見られた。さらにmHtt-exon1-Q145-EGFPが凝集した時に細胞中に見られるGFP蛍光の輝点の数を、蛍光顕微鏡を用いてカウントした結果、mHttの凝集体が減少している事を確認した（図5）。

化合物4のmHtt分解誘導活性をさらに強めるために、リンカー部位と疎水性構造を改変し、構造活性相関を検討した。リンカー部位を短縮した化合物4'と、疎水性部位を改変した化合物 6, 7, 8, 9を合成し、GFP定量法を用いて分解誘導活性評価を行った。24時間処理における分解誘導活性をGFP定量法を用いて評価した結果、分解誘導活性が現れる濃度に差は

出たもののすべての化合物で分解誘導活性が確認された（図6）。化合物4のリンカーを短くした化合物4'は化合物4よりも強い分解誘導活性を示し、疎水性部位を高くした化合物9は全ての化合物中で最も低い濃度で分解誘導活性を示した。

最後に、今回見出したHyT化合物とPROTAC 3についてCaco-2細胞透過性試験とマウスを用いたin vivo脳移行性試験を行った。その結果、HyT 9は高いCaco-2細胞膜透過性を示し、マウスを用いたIn vivo 脳移行性試験においてはHyT 4'のみが積極的な脳移行性を示すことが分かった。今後は投与量の検討とさらなる構造展開を行い、脳内でも有効濃度に達する投与条件と化合物の創出が求められる。

苦勞した点

化合物の活性評価に適した評価系や実験手法を見つけ出すことに手間と時間

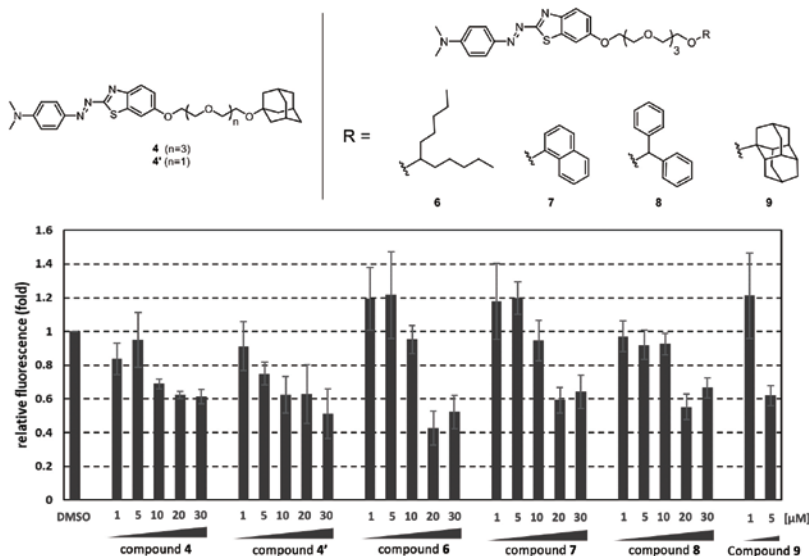


図6. 疎水性タグ化合物の構造活性相関
横軸：DMSOサンプルを基準としたライセート中のGFP蛍光強度

がかかりました。私は本研究の前任者である山下博子博士から引継ぎ研究を進めましたが、実験材料や実験器具が変わってしまったためか、同じようなきれいなデータを再現することに苦勞しました。実験を重ね適した評価系を検討した結果、遺伝子導入効率やタンパク質検出方法に問題があったことが判明し、その原因を基により高精度で簡便な評価系を確立できました。また論文のリバイズのための実験と修士論文の執筆が重なったこともあり非常にハードなスケジュールでした。

参考文献

- Gatchel, J. R.; Zoghbi, H. Y.; Diseases of unstable repeat expansion: mechanisms and common principles. *Nat. Rev. Gene.* 2005, 6, 743-755.
- Reiner, A.; Dragatsis, I.; Dietrich, P. Genetics and Neuropathology of Huntington's Disease. *Int. Rev. Neurobiol.* 2011, 98, 325.
- Gillan, P. B.; Ray, D.; James, F. G.; Michael, R. H.; Chris, K.; Blair, R. L.; Martha, N.; Christopher, A. R.; Rachael, I. S.; Ronald, W.; Edward, J. W.; Sarah, J. T. Huntington disease. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2015, 1, 15005.
- (a) Tomoshige, S.; Nomura, S.; Ohgane, K.; Hashimoto, Y.; Ishikawa, M. Discovery of Small Molecules That Induce the Degradation of Huntingtin. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2017, 56, 11530-11533; (b) Tomoshige, S.; Nomura, S.; Ohgane, K.; Hashimoto, Y.; Ishikawa, M. Degradation of Huntingtin Mediated by a Hybrid Molecule Composed of IAP Antagonist Linked to Phenylidiazene Benzothiazole Derivative. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018, 28, 707-710; (c) Yamashita, H.; Tomoshige, S.; Nomura, S.; Ohgane, K.; Hashimoto, Y.; Ishikawa, M. Application of Protein Knockdown Strategy Targeting β -Sheet Structure to Multiple Disease-Associated Polyglutamine Proteins. *Bioorg. Med. Chem.* 2020, 28, 115175.
- H, Fischer.; R, Gottschlich.; A, Seelig. Blood-brain barrier permeation: molecular parameters governing passive diffusion. *J Membr Biol.* 1998, 165, 201-211.
- (a) Neklesa, T. K.; Tae, H. S.; Schneekloth, A. R.; Stulberg, M. J.; Corson, T. W.; Sundberg, T. B.; Raina, K.; Holley, S. A.; Crews, C. M. Small-Molecule Hydrophobic Tagging-Induced Degradation of HaloTag Fusion Proteins. *Nat. Chem. Biol.* 2011, 7, 538-543. (b) Gustafson, J. L.; Neklesa, T. K.; Cox, C. S.; Roth, A. G.; Buckley, D. L.; Tae, H. S.; Sundberg, T. B.; Stagg, D. B.; Hines, J.; McDonnell, D. P.; Norris, J. D.; Crews, C. M. Small-Molecule-Mediated Degradation of the Androgen Receptor through Hydrophobic Tagging. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 9659-9662.

近位依存性ビオチン化酵素を基盤とした PROTACs および Molecular glues 依存的な相互作用解析技術の開発

山中 聡士（愛媛大学プロテオサイエンスセンター 特定助教）

発表論文：

A proximity biotinylation-based approach to identify protein-E3 ligase interactions induced by PROTACs and molecular glues
Satoshi Yamanaka, Yuto Horiuchi, Saya Matsuoka, Kohki Kido, Kohei Nishino, Mayaka Maeno, Norio Shibata, Hidetaka Kosako, Tatsuya Sawasaki
Nature Communications 13, 183 (2022)



背景

標的タンパク質を分解誘導することが出来るタンパク質分解誘導剤は、疾患を引き起こすタンパク質を細胞から除去できるため“次世代の治療薬”として期待されています。サリドマイドやサリドマイド誘導体（Immunomodulatory drugs/IMiDs）は、複合体型E3ユビキチンリガーゼCRL4（Cullin4-RING ubiquitin ligase）の基質認識サブユニットとして機能するセレブロン（CRBN）へ結合し基質特異性を変化させることで、本来基質ではない基質タンパク質（ネオ基質）の分解を誘導し、その結果、薬理作用および副作用に発揮することが明らかとなっています。IMiDsは“分子糊”として機能することで、E3ユビキチンリガーゼとネオ基質を近接させ分解誘導することから、Molecular glue（分子糊）型のタンパク質分解誘導剤と呼ばれています。

多発性骨髄腫を中心に、年間約1兆円の規模で利用されているIMiDsの臨床的成功により、分子糊型のタンパク質分解誘導剤は多くの疾患の魅力的な化合物となっています。さらに現在では、IMiDsのようなE3ユビキチンリガーゼに結合する化合物（E3 バインダー）と標的タンパク質へ結合する化合物（標的バインダー）を繋ぎ合わせたキメラ化合物であるPROTACs（Proteolysis targeting chimeras）型のタンパク質分解誘導剤の開発が精力的に行われています。PROTACs型のタンパク質分解誘導剤の

開発によって、これまでに治療薬の標的にすることが困難であったタンパク質を標的にすることが可能であり、大きな期待が持たれています。これらの背景から、タンパク質分解誘導剤依存的にE3ユビキチンリガーゼに相互作用するタンパク質を解析することは、タンパク質分解誘導剤の開発や臨床応用において極めて重要です。

これまでに、培養細胞を用いた定量的質量分析法などによって多くのネオ基質および標的タンパク質が見出されてきました。また、我々はコムギ無細胞タンパク質合成系を基盤としたプロテインアレイを用いた網羅的な相互作用解析技術を開発し、ネオ基質の同定が可能であることを報告しています（Yamanaka et al (2021) EMBO J）。しかしながら、未解明なIMiDsの作用機序が存在することや、今後多様なタンパク質分解誘導剤が開発されることが予想されることから、ネオ基質や標的タンパク質を解析する技術の開発は極めて重要であります。本研究グループは、2020年にタンパク質相互作用解

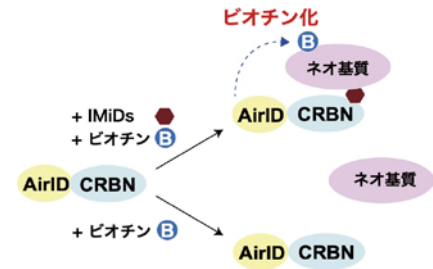


図1 AirID-CRBNによるIMiDs依存的なネオ基質のビオチン化

析に有用な近位依存性ビオチン化標識（BioID）酵素としてAirID (ancestral BirA for proximity-dependent biotin identification) の開発に成功しました（Kido et al (2020) eLife）。さらに、AirID融合CRBNを用いることで、IMiDs依存的な標的タンパク質のビオチン化が可能であることを報告しています（Kido et al (2020) eLife）。これらの背景から、AirIDを用いたタンパク質分解誘導剤依存的に相互作用する標的タンパク質を網羅的に解析する評価系の開発を試みました。

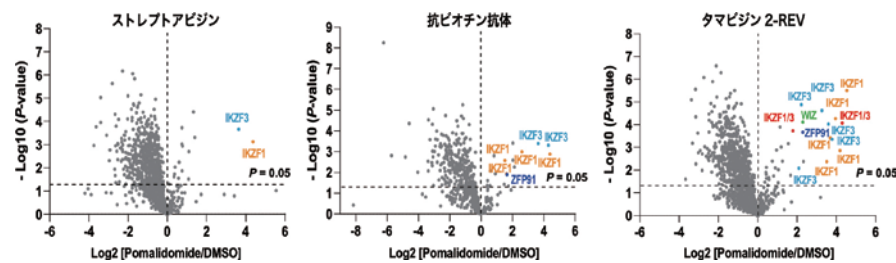


図2 質量分析を用いた解析におけるビオチン化タンパク質・ペプチドの濃縮法の検討

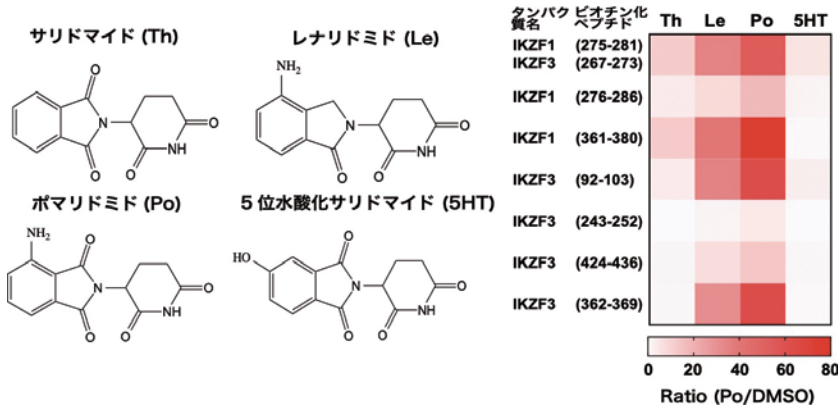


図3 サリドマイド誘導体の化学構造および質量分析法による特異性の評価

結果

本研究では、CRBNのようなE3ユビキチンリガーゼへAirIDを融合することで、タンパク質分解誘導剤依存的に相互作用する標的タンパク質をビオチン化することが可能であることを示しました (図1)。まず初めに、タンパク質分解誘導剤依存的にビオチン化されるタンパク質の網羅的な解析のために、質量分析法を用いた評価系の構築を試みました。これまでに、ストレプトアビジンや抗ビオチン化抗体を用いて、ビオチン化タンパク質・ペプチドを質量分析法によって網羅的に解析する手法が開発されています。本研究では、過剰なビオチンによる競合溶出が可能なアビジン様タンパク質であるタマビジン2-REVを用いたビオチン化ペプチドの濃縮法が、タンパク質分解誘導剤依存的な相互作用解析技術に有用であることを示しました (図2)。さらに、質量分析法による網羅的な解析においても、ネオ基質の選択性が評価可能であることが示されました (図3)。また、従来のBioID酵素と比較して、AirIDによるネオ基質のビオチン化はタンパク質分解誘導剤依存性が高いことが示されました。

次に、AirID-CRBNを安定発現する様々な培養細胞を作成し、質量分析法による解析を行いました。その結果、これまでに報告のない多くのタンパク質がIMiDs依存的にビオチン化されることが確認されました。これらの候補タ

ンパク質の中から、IMiDsのネオ基質に共通して存在することが知られている Zinc finger domain (ZNF) を有するタンパク質を対象に詳細な解析を行いました。生化学的な相互作用解析および培養細胞を用いた解析の結果、サリドマイド誘導体であるポマリドミド依存的にZMYM2 (zinc finger MYM-type protein 2) が分解誘導されることを示しました (図4、左)。さらに、血液がんを引き起こすZMYM2-FGFR1融合タンパク質もポマリドミドによって分解誘導されることを明らかにし、本解析技術がネオ基質や標的タンパク質の同定に有用であることを示しました (図4、右)。

最後に、本解析技術がその他のタンパク質分解誘導剤にも利用可能であることを確認しました。AirID-DCAF15を発現するHCT116細胞において、Indisulamのネオ基質であるRBM39がIndisulam依存的にビオチン化される

ことが示されました (図5、左)。さらに、BETファミリータンパク質であるBRD2、BRD3およびBRD4に対するPROTACsとして開発されたARV-825依存的なBETファミリータンパク質のビオチン化ペプチドを検出することに成功しました (図5、右)。これらの結果から、AirIDをE3ユビキチンリガーゼに融合することで、細胞内のタンパク質分解誘導剤依存的に相互作用するタンパク質を網羅的に同定・解析できることが示されました。

今後の展望

現在、タンパク質分解誘導剤を用いた標的タンパク質の機能解析や治療薬の開発は大きな研究領域となっており、今後も様々な分子糊型およびPROTACs型のタンパク質分解誘導剤が開発されることが予想されます。実際に、多様な疾患を対象に様々なタンパク質分解誘導剤の開発が進んでおり、いくつかのタンパク質分解誘導剤は現在臨床段階にあります。しかしながら、標的タンパク質を細胞内から徹底的に除去するというタンパク質分解誘導剤の強力な作用を考慮すると、副作用を引き起こす本来の目的ではないタンパク質との相互作用を評価することはとても重要です。実際、本研究においても、様々なタンパク質がタンパク質分解誘導剤依存的に相互作用することが示唆されました。これらの結果から、本解析技術を利用することで、タンパク質分解誘導剤の作用

機序の解明や副作用を回避した化合物開発に繋がることが期待されます。また、本技術はタンパク質分解誘導剤依存的にE3ユビキチンリガーゼへ相互作用するタンパク質を網羅的に解析する技術であり、相互作用するが分解誘導されないタンパク質がタンパク質分解誘導剤の作用にどのような影響を与えているのかを理解することが今後の重要な課題であると考えられます。

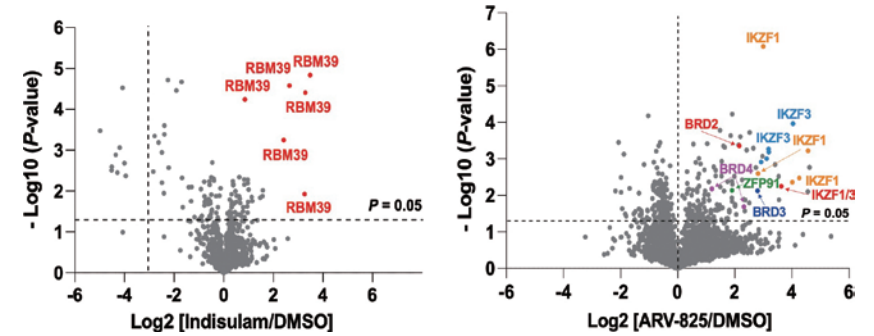


図5. Indisulamのネオ基質 (RBM39) のビオチン化ペプチドの解析 (左) および PROTACs (ARV-825) の標的タンパク質 (BRD2/3/4) のビオチン化ペプチドの解析 (右)

脱ユビキチン化酵素 USP8 の自己阻害機構の発見 ～USP8 の活性化機構の解明に向けた大きな一歩～

柿原 慧遵 (東京工業大学 駒田研究室 日本学術振興会特別研究員)

発表論文：

Molecular basis of ubiquitin-specific protease 8 autoinhibition by the WW-like domain

Keijun Kakiyama, Kengo Asamizu, Kei Moritsugu, Masahide Kubo, Tetsuya Kitaguchi, Akinori Endo, Akinori Kidera, Mitsunori Ikeguchi, Akira Kato, Masayuki Komada, Toshiaki Fukushima

Communications Biology 4, 1272 (2021)



背景

ユビキチン化修飾は、標的タンパク質にユビキチンを付加する「ユビキチン化」と、標的タンパク質からユビキチンを取り除く「脱ユビキチン化」によって制御されている。我々の細胞内では、ユビキチンリガーゼと脱ユビキチン化酵素の絶妙なバランスによって、様々なタンパク質のユビキチン化修飾が緻密に制御されている。また、近年、これらの酵素の活性の異常が、様々な疾患の発症に関与することが報告されている。したがって、これらの疾患の発症メカニズムを理解するためには、ユビキチン化修飾を制御する酵素の活性が細胞内でどのように制御されているかを調べるのが重要である。

本研究で着目しているUbiquitin-specific protease 8 (USP8) は、細胞内の様々な小胞輸送経路を制御する脱ユビキチン化酵素である。USP8は、分子内に複数のドメイン・モチーフを有しており、これらのドメイン・モチーフを使い分けることで、基質を選択的に脱ユビキチン化している。一方、現在に至るまでUSP8の活性制御機構については十分に解明されていなかった。最近、我々は、USP8がクッシング病の発症に関与することを明らかにした。クッシング病は、下垂体腫瘍から副腎皮質刺激ホルモンが過剰に分泌され、その結果、副腎から糖質コルチコイドが過剰に分泌されることで起こる内分泌疾患である。我々は、以前、クッシン

グ病患者の下垂体腫瘍の約50 %でUSP8遺伝子に変異が生じていることを報告した。これまでの解析から、この変異によってUSP8は恒常的に高い活性を持つことが明らかになっている。しかし、この活性化の分子メカニズムはよくわかっていない。

結果

我々は、以前、USP8の酵素活性ドメイン (USPドメイン) は全長のUSP8に比べて高い活性を持つという実験結果を得ていた。したがって、USP8のUSPドメイン以外の領域にUSP8の活性を抑制するドメインがあると仮説を立てた。

まず、USP8の様々な領域欠損体を

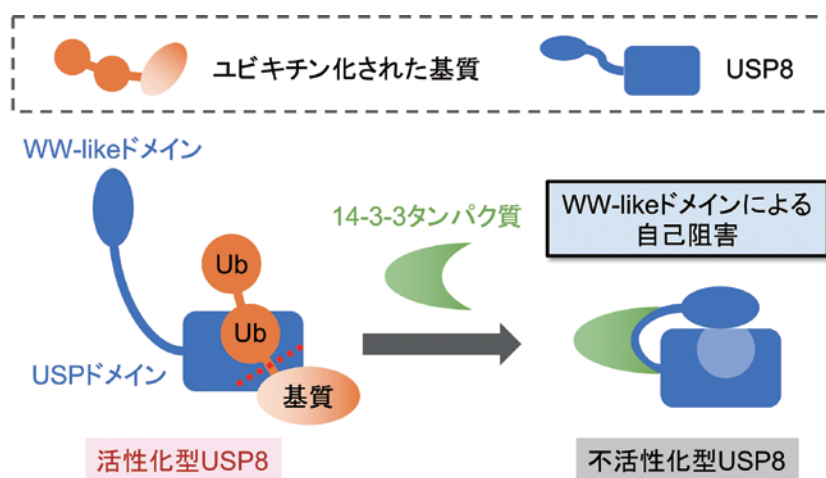


図1. WW-likeドメインによるUSP8の自己阻害機構。WW-likeドメインは、USPドメインのユビキチン結合部位を塞ぎ、USP8の活性を自己阻害する。さらに、14-3-3は、この自己阻害機構を増強することでUSP8の活性を抑制する。しかし、疾患変異によって14-3-3が結合できない場合、この自己阻害機構は減弱し、USP8が恒常的に活性化する。

作製し、これらの活性を測定した。その結果、分子中央の645番目から684番目のアミノ酸領域を欠損させたUSP8において、活性の著しい増加が確認された。そこで、この欠損体のユビキチン結合能を調べたところ、この欠損体はユビキチンに対して野生型よりも強く結合することがわかった。このことから、USP8の645番目から684番目のアミノ酸領域にUSP8のユビキチン結合能を抑制する機能があると考えた。

次に、この領域がUSP8のユビキチン結合能を抑制する分子機構を調べた。USP8の645番目から684番目のアミノ酸配列を調べた結果、WWドメインと高い相同性を持つことがわかった。したがって、この領域をWW-likeドメインと命名した。一般的に、WWドメインはタンパク質間相互作用を担うドメインとして知られる。そこで、我々は、WW-likeドメインがUSPドメインに作用することで、USP8の活性を自己阻害していると仮説を立てた。様々な解析の結果、WW-likeドメインがUSPドメインに相互作用することが明らかになった。さらに、in silicoの構造解析により、WW-likeドメインはUSP

ドメインのユビキチン結合部位に相互作用し、その結果、USPドメインのユビキチン結合部位を塞いでしまうことがわかった。

USP8のWW-likeドメインとUSPドメインの間には、14-3-3結合モチーフが存在する。我々は、以前、このモチーフに14-3-3が結合することでUSP8の活性が抑制されることを報告した。一方、クッシング病患者の下垂体腫瘍で見つかったUSP8遺伝子の変異は、この14-3-3結合モチーフに集中して生じている。この変異によって、14-3-3はUSP8に結合せず、その結果、USP8

は恒常的に活性化する。そこで、我々は、14-3-3がWW-likeドメインとUSPドメインの相互作用を調節し、USP8の活性を抑制すると予想した。解析の結果、14-3-3が結合することで、WW-likeドメインとUSPドメインの相互作用、つまり自己阻害が増強されることがわかった。逆に、クッシング病患者でみられる遺伝子変異は14-3-3の乖離を引き起こし、WW-likeドメインとUSPドメインの相互作用を弱めることが明らかとなった。

結論

本研究では、USP8の分子中央領域にWW-likeドメインを新たに同定し、このドメインによるUSP8の自己阻害機構を発見した(図1)。また、14-3-3は、WW-likeドメインによる自己阻害機構を増強することで、USP8の活性を抑制していることも示唆された。一方、クッシング病患者でみられる遺伝子変異によってこの自己阻害機構は減弱し、その結果、USP8は恒常的に活性化することが明らかとなった。

クッシング病の治療には、USP8の活性を阻害することが重要と考えられる。今後は、このWW-likeドメインによるUSP8の自己阻害機構の知見に基づき、USP8に特異的に作用する低分子阻害剤の探索などを行なっていきたい。

挿話

本領域のニュースレターでは、大変多くのことを勉強させて頂いています。加えて、都医学研の山野先生が執筆されている編集後記、「さて、話は大きく変わりますが・・・」から始まる週刊少年ジャンプを例にした記事も毎号非常に楽しみにしています。さて、多くの週刊少年ジャンプの漫画では、「友情」がテーマとして描かれています。旅の道中で仲間と出会い、協力しながら困難に立ち向かっていくという王道

ストーリーです。私自身も本領域の班会議をはじめ、国内外の学会に参加する度に色々な仲間と出会いました。特に、昨年度冬の分子生物学会では、「夏の若手主体発表会での発表を聞いて、面白い研究だなと思ったので詳細を聞きに来ました。」と、本領域内の学生が私の発表を聞きに来るという出来事がありました。ケモテクノロジーの導入により転換期を迎えている本領域の研究は、どのテーマも簡単には進められない困難さがありますが、共に立ち向かう仲間に出会った思いで大いに励ま

されました。こうした経験から、私は学会に参加した際は、より多くの研究者と交流することを目標にしています。仲間というのは、時に切磋琢磨し合うライバルですが、困難に立ち向かう時、互いに助け合う存在でもあります。こうした仲間に出会うために最適な場所が、学会や班会議だと思います。ですので、特に学生の皆様は、班会議や若手主体発表会に積極的に参加し、色々な人に話しかけ、良き仲間を見つけていってはいかがでしょうか。



今年度の駒田研究室のメンバー。個性豊かな仲間と共に汗水流して頑張ります。

日本農芸化学会東北支部 奨励賞を受賞

高岡 洋輔（東北大学大学院 理学研究科化学専攻 准教授）



オンライン授賞式の写真

この度、2021年度 日本農芸化学会東北支部 奨励賞を受賞させていただきました。2014年東北大に異動後から取り組んでいる、植物ホルモングジャスモン酸のシグナル伝達機構を解析するケミカルツール開発に関する研究内容です（研究題目：「ジャスモン酸シグナルを解析するペプチド型ケミカルツールの開発」）。ジャスモン酸を始め、植物ホルモンは一つの分子で植物の発生や分化など多岐にわたる活性を引き起こしますが、そのメカニズムは生物に普遍的なタンパク質間相互作用（PPI）ネットワークに由来するものです。特にジャスモン酸シグナルでは、この分子がユビキチンリガーゼと転写リプレッサーのPPIを誘起することで、リプレッサーが分解されて様々な遺伝子の転写が活性化されることで、植物防御や老化が引き起こされます。このシグナル伝達の複雑な点は、リプレッサー・転写因子に数十種類以上の遺伝子が絡んでいる点で、私はこのような系に、選択的ケミカルツールが有効であると期待して研究を行なっています。今回の授賞式では、リプレッサーの一部のみを分解する選択的小分子リガンドの開発、並びにリプレッサー／転写因子間のPPIを阻害するステープルペプチドの開発に関する研究を発表させていただきました。前者は天然のタンパク質分解促進剤に選択性を付与するものであり、後者はステープルペプチドが植物体内で初めて機能した実例となりました。いずれも本領域内で活発に議論・研究開発されている基盤技術ですが、これが遺伝的冗長性に富んだ植物科学において極めて有効であ

ることを今後も実証していきたい所存です。

当初は山形大学での実地での開催が予定されていましたが、残念ながら支部大会と授賞式は本年度10月9日に、オンラインで実施されました。写真は受賞者・本年度支部大会世話人の今野先生、支部長の橋本先生で撮ったオンライン撮影会（支部大会で発表した上田研の学生さんにスクリーンショットを撮ってもらいました）と、後日撮った表彰状です。授賞式はどちらでもいいですが、そろそろ実地での学会で酒を酌み交わしながらディスカッションがしたい今日この頃です。最後になりますが、本受賞にあたってご推薦いただき、日々ご指導・ご支援いただいている研究室主宰者の上田実先生、並びに研究室メンバーに、この場を借りて厚く御礼申し上げます。どうもありがとうございます。



表彰状と筆者

第68回日本ウイルス学会学術集会でポスター賞ダブル受賞

高橋 宏隆、江村 祐希（愛媛大学 プロテオサイエンスセンター）
福嶋 俊明、氷見 雄哉（東京工業大学 科学技術創成研究院）
インタビュアー：山野 晃史

山野：2021年の11月に開かれた第68回日本ウイルス学会学術集会で、高橋グループと福嶋グループがそれぞれ研究発表を行いました。この学会は、神戸国際会議場を会場として、対面・オンラインのハイブリット形式で行われました。学会による評価の結果、優秀ポスター賞をダブル受賞致しました（写真1）ので、受賞者の皆さんにインタビューします。そもそも、ユビキチン研究者がなぜウイルス研究をされたのでしょうか？

高橋：私は10年以上前にシンガポールにポストドク留学していたのですが、その際にウイルス感染症の研究室に所属し、現地で大きな問題となっているデングウイルス（DENV）をテーマに研究しておりました。DENVや同じフラビウイルス科のウイルスは、10,000塩基を超えるプラス鎖一本鎖RNAゲノムが宿主細胞内で翻訳され、約3,400アミノ酸からなる巨大な一本の前駆体タンパク質が作られます。この前駆体タンパク質は宿主や自身のプロテアーゼにより切断されて、10個の機能的なタンパク質となり、そのうちの7個はウイルスゲノム複製のためのタンパク質複合体を形成します。この複合体は、別々に合成した7つのタンパク質を後から混ぜたり、細胞内でこれらを共発現させても、前駆体タンパク質が切断され形成された機能的な複合体を再現することはできません。一方で、in vitroで前駆体の巨大タンパク質を合成し、自身の活性により個々のタンパク質を作らせた用いた例はなく、詳細な分子機構については不明な点が多く残っています。

山野：確かに、こんなに大きいタンパク質を合成するのは大変ですね？

高橋：本当に難儀なタンパク質でした（笑）。ただ私は本領域において、愛媛大学のコムギ無細胞タンパク質合成技術を用いて、ヒトの脱ユビキチン化酵素のほぼ全てを完全長組

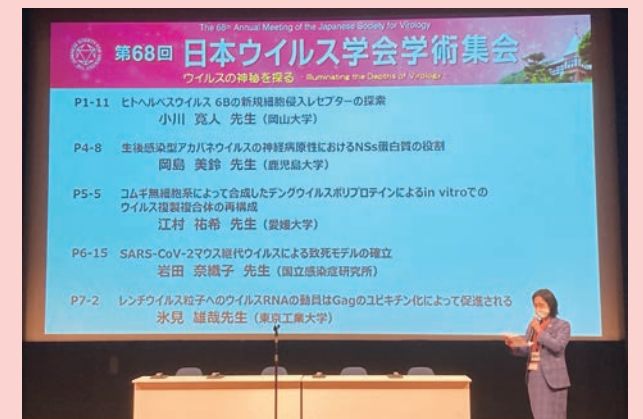


写真1. 第68回日本ウイルス学会学術集会ポスター賞受賞者発表の瞬間

換えタンパク質として合成し、その活性やユビキチン鎖特異性を調べる、というプロジェクトに取り組んできました。脱ユビキチン化酵素の中でも特にUSPファミリーは総じて分子量が大きく、中には300 kDa近いものもありました。しかし、コムギ無細胞系を用いることで、100種類程度存在するヒトのDUBのうち、巨大DUBも含め80種類について活性型タンパク質の合成に成功しました。そこで、このDUBの経験に味を占めて、巨大DUBがいけるならDENVの巨大前駆体タンパク質もいけるのでは？という悪ノリで、当時研究室に配属されたばかりの研究について右も左も分からない江村祐希君にこの無謀な挑戦を託したのです。

山野：なるほど。では、福嶋グループがウイルス研究を始めたきっかけは何でしょうか？

福嶋：2020年の春からウイルスの増殖メカニズムに関する研究を始めたのですが、間接的なきっかけはCOVID-19パンデミックです。コロナウイルスの増殖にはウイルス遺伝子にコードされたパライン様プロテアーゼPLproが重要です。2020年のはじめ、新型コロナウイルスのPLproは脱ユビキ

チン化酵素として働くのではないかと議論されていました。その後、世界各国のグループによって電光石火で研究が進められ、このPLproはユビキチン様タンパク質ISG15の切断活性をもち、ウイルスの増殖や宿主免疫システムからの回避に重要な役割を果たしていることが明らかになりました。現在、PLproを標的とした抗ウイルス薬の開発も進められていると伺っています。

山野：コロナウイルスは生存戦略として脱ISG酵素を獲得したんですね。それは薬剤標的としても重要になってきますよね。

福嶋：はい、実際に多くの人がそう考えているようで、緊急事態宣言で自宅にこもる中、このようなウイルスの脱ユビキチン化酵素に関する研究の急展開を目の当たりにしました。そして、ウイルスの持つ酵素だけでなく、私たちの体の中に備わっている脱ユビキチン化酵素もウイルスの増殖に何らかの関与をしているのではないかと考えを巡らせました。私たちは、長年、エンドソームタンパク質の選別輸送に関わる脱ユビキチン化酵素USP8の研究を進めています。その過程で、USP8を動物細胞に発現させるレンチウイルスはなぜか力価が低くなることを経験していました。そのことから、USP8がレンチウイルスの増殖制御に関わるかもしれないと着想したことが、研究開始の直接のきっかけです。

山野：次に、対象となった研究の内容について詳しく伺いたいと思います。まず、高橋先生の研究についてお聞きします。

高橋：私の研究ではウイルスゲノムRNAの新規合成やウイルスタンパク質の成熟化などに関わる7つの非構造タンパク質が連なる2,616アミノ酸・分子量293 kDaの前駆体タンパク質の合成にチャレンジしました。このタンパク質は単に分子量が大きいだけでなく、膜貫通領域を有するタンパク質も複数含まれています。これらは細胞内においては他のウイルスタンパク質、特に可溶化タンパク質をER膜に繋ぎ止めておく足場として機能する重要な役割を担っていますが、ご存知のように組換えタンパク質として合成する場合には、膜貫通領域は不溶化の原因となる厄災ドメインです。

山野：分子量が大きいだけでなく、疎水性の高い膜貫通領域を複数持つとなると、合成のハードルはどんどん上がりますよね？

高橋：はい。最初に通常の可溶化タンパク質と同じ条件で合成しても、全く活性はありませんでした。その後の試行錯誤の結果、翻訳反応に様々なサプリメントを添加できる無細胞系の利

点を活かし、ある界面活性剤を添加することで、全長の前駆体タンパク質だけでなく、自身のプロテアーゼ活性によって自己切断されて生成した多くの成熟タンパク質も認められることを見出しました。つまり、この前駆体タンパク質は合成されると同時に、自身のプロテアーゼによって成熟タンパク質を作り出しており、感染細胞内における過程の一部をin vitroで再現することに成功したと言えます。このように、巨大な前駆体タンパク質を試験管内で活性型タンパク質として合成した例は世界にもほとんどなく、その成果を評価して頂き、今回のポスター賞受賞となりました。

山野：福嶋グループの研究内容についてもお聞かせください。

福嶋：2020年の春に、氷見雄哉君が修士1年生として研究室に入室しました。4月と5月はステイホーム期間だったので、彼と二人でレンチウイルスとユビキチンに関する過去の文献の調査に没頭しました。調べると、レンチウイルス粒子には大量のユビキチン分子が含まれていることや、ウイルス構造タンパク質Gagがユビキチン化を受けていることが明らかにされていました。さらに、Gagのユビキチン化部位を変異させるとウイルスの増殖が抑制されることも既にわかっていました。しかし、Gagのユビキチン化がレンチウイルスの増殖を促進する分子機構はよくわかっていませんでした。また、Gagにユビキチンを付加するユビキチンリガーゼとしてNEDD4Lが同定されていたましたが、脱ユビキチン化酵素は不明でした。

緊急事態宣言の解除と同時に、早速、USP8がGagの脱ユビキチン化酵素として働くかを調べる実験を始めました。最初は週にのべ20時間しか実験できないという状況でしたが、予想した通りの結果が出てきたときには興奮しました。

山野：色々と制限されている中での期待通りの結果は喜びもひとしおですね。

福嶋：はい、やったぞという感じでした。その後は、USP8の活性を様々な手法で操作してGagのユビキチン化レベルを変化させて、レンチウイルスの出芽や感染能にどのような影響が出るかを調べました。レンチウイルスが宿主細胞の細胞膜から出芽する際に、宿主のESCRT複合体と呼ばれる膜切断装置が働くことが知られています。ESCRT複合体はエンドソームの多胞体形成にも重要で、膜切断部位にユビキチン化タンパク質が集積することがESCRT複合体が働くトリガーになります。そこで私たちは、Gagのユビキチン化はウイルス粒子の出芽に重要だろうと予想

しました。しかし、解析を進めたところ、USP8によるGagの脱ユビキチン化はウイルス粒子の出芽に影響しませんでした。

山野：研究は山あり谷ありですね。それで、どう進めたのですか。

福嶋：レンチウイルスは粒子中にRNAゲノムをもちます。そこで、ウイルス画分のRNA含量を調べたところ、Gagのユビキチン化を増やすとRNA含量が増えることを見つけました。まだ研究の途中ですが、Gagがユビキチン化を受けるとウイルスRNAと結合しやすくなり、その結果、ウイルスRNAを含まない粒子（言わばカラの粒子）が減少し、ウイルスRNAを含んだ粒子が効率的に形成されることがわかりつつあります。

山野：では次に、受賞の感想をお聞かせください。

高橋：今回のウイルス学会・学術集会は、全国のウイルス研究者が集う、ウイルス感染症の国内最大の学会です。今回のポスター賞は100題以上のポスター演題の中から5名のみが選出される狭き門であり、その名誉ある賞にケモユビキチンから2名が選ばれたことは本当に喜ばしいことであり、またウイルス感染症の領域であってもタンパク質レベルの研究は重要視されていることを改めて実感致しました。ちなみに受賞式ですが、東京工業大学の氷見さんが「ユビキチン」というワードが入った題名で受賞していましたが、当の私は自分の指導学生の受賞で舞い上がっていたこともあり、まさか同じケモユビキチン班員の学生さんとは全く気づかず、完全にスルーでした。後ほど、江村くんから「受賞した東工大の人は僕と同じM2で、ユビキチンの研究者ですよ」と言われて、そこで初めて「え？駒田研の人やん!」となりました。その後、会場から去ろうとする氷見さんを半ば強引に引き留めて、一緒に会場入り口で写真を撮らせてもらいました(写真2)。氷見さんにしてみると、突然に人相の悪い怪しげな人から強引に写真撮影させられて、さぞかしびっくりされたかと思います。今回はコロナ禍のため、残念ながら福嶋先生は来られていなかったのですが、もしコロナ禍でなければケモユビキチンからのW受賞ということで、三宮あたりで4人で楽しく打ち上げができたと思うと非常に心残りです。

福嶋：この分野に参入したばかりでしたので、ウイルス学の専門家のご意見を頂くために、初めて学会に参加しました。多くの先生方から貴重なご意見をいただけただけでなく、幸いにも学会から高く評価され、優秀ポスター賞を頂くことができました。初



写真2. 会場入り口で表彰状を持って写真撮影。江村祐希君（左）と氷見雄哉君（右）

参加での受賞で、大変恐縮しています。最終日に現地で表彰式があるということでしたので、代表して氷見君が現地に向かうことになりました。表彰式では、同じ班員である高橋先生と江村君と氷見君が同席することとなり、思わぬ出会いに話が弾んだそうです。表彰式後、高橋先生が「これから万全の感染対策をとった上で対面の反省会を行うぞ」と仰ったのには思わず笑ったとか。あいにく氷見君は同席できませんでしたが、夜の街に消えていく二人を見送りながらうらやましく思ったと聞いています。

山野：夜の反省会、どんなだったのでしょうか（笑）？さて、今回の研究に携わった高橋グループの江村祐希君、福嶋グループの氷見雄哉君からも受賞の感想を聞かせてください。

江村：ありがとうございます。私は学部3年生の秋に研究室配属が決まり、その後に研究テーマ選びの時に、誰しもが日常から耳にするウイルスという言葉に惹かれ、興味本位だけでとにかくやってみたいと思いました。結果論ですが、修士の2年間にコロナ禍によるウイルス感染症の猛威を体感したこともあって、ウイルス研究の重要性を直に感じ、このテーマを選んで良かったと感じています。しかしいざ実験を始めた当初は、8,000塩基近くの遺伝子の発現ベクターへのサブクローニングで悪戦苦闘し、そこをクリアした後のタンパク合成はさらにハードルが高く、とにかく大きい分子量のため、実験ごとに合成量や活性が大きくバラついてしまい、研究は思うようには進みませんでした。そこに追い討ちをかけるように、修士1年からコロナ禍で実験停止になってしまい、研究の進捗状況を考えると本当に焦りました。しかし、実験ができない中でこれまでの実験ノートを見直したところ、実験方法の記載が曖昧で、実験操作の詳細が後からでは分かりませんでした。そこでノートの書き方を根本的に見直し、イ

ラストなども多用して実験が再現できるようにしました。その結果、実験のポイントがどこにあるかを把握することができ、再現性のある結果を残せるようになりました。そのため実験再開後は着々と実験が進み、最終的にはデングウイルスの前駆体タンパク質をin vitroで活性型として合成することができました。余談ですが、指導教員の高橋先生は「デカイタンパク質も気合いと根性で合成できる」といった無茶振りを連発してきましたが、自分の中でいい意味で軽く捉えていたこともあり、楽しんで実験できたことが結果に繋がったのかもしれませんが。そして学生最後の年に日本ウイルス学会学術集会で評価して頂いたことは、将来への自信に繋がる貴重な経験になり、とても感謝しています。この春からウイルス研究とは異なった業種の企業に就職しますが、さまざまな業界で逞しく活躍されている卒業生の先輩方を見ると、この研究生生活で学んだことは社会人になっても必ず生きてくと強く感じています。最後になりますが、研究室のメンバーにも恵まれてとても充実した研究生生活を送ることができ、本当にこの研究室で学べて良かったなと思っています。

氷見：私は、2020年の春から福嶋先生のいる研究室に参加しました。3月末頃、引越しの翌日には研究室に向かい、新しい環境で新しい研究に取り組めると胸を躍らせていました。しかし、1週間ほどで緊急事態宣言が発令されて出校停止になってしまいました。出端を挫かれる思いでしたが、そこから2、3か月の間は自宅でひたすら過去の論文の調査を行いました。今振り返ってみると、この勉強集中期間はむしろよかったかもしれません。と言うのも、このプロジェクトはラボの先輩も詳しくなく、闇雲に手を出してもすぐに壁にぶつかったらと思うからです。出校停止の解除後も、最初は週に20時間程度しか研究できません



写真3. 後輩からの卒業プレゼントを手にご満悦の氷見雄哉君（右）と彼の熱血指導のもとでのテーマを引き継ぐ後輩の萩生田健太君（左）。

でした。少ない時間で最大の成果を得られるように、実験の優先順位をよく考え、段取りを最適化して、時間内に作業を終えられるように工夫しました。学部時代に忙しい飲食店でアルバイトをしていたのですが、その時にやりくりした経験が活きました。研究の途中で、予想とは異なる方向に研究が進みはじめました。予想外の実験結果に戸惑いましたが、勉強集中期間で蓄えていた背景知識のおかげで結果を多角的に解釈でき、スムーズに仮説を立て直すことができました。制限の多い研究生生活でしたが、最終的には学会で評価され、大変嬉しく思っています。ここまで進めることができたのも、駒田先生や福嶋先生をはじめとする研究室の皆さんのサポートのおかげと感謝しています。私は2022年の春に修士課程を修了して民間企業に就職しますが、私が携わったこの研究を後輩が推し進めてくれることを楽しみにしています（写真3）。また、ケモユビキチン班で出会った皆様のご活躍を祈念しております。

山野：お二人の今後の活躍を期待しています。それでは最後に、あらためて高橋先生、福嶋先生から一言お願いします。

高橋：今回はユビキチン-プロテアソーム系が直接関与する研究内容ではなかったのですが、デングウイルスの前駆体タンパク質の合成やその後の解析には、同じくプロテアーゼであり巨大タンパク質であるDUBの合成や生化学的解析のノウハウが色々と活かしました。またデングウイルスではありませんが、現在の疫病を引き起こしたSARS-CoV2などのウイルスプロテアーゼの中には、自己プロセッシングだけでなく脱ユビキチン化や脱ISG15化活性を持つものもあり、宿主の自然免疫からの忌避などに必須とされています。今後、本領域で培ったDUB研究を、今後様々なウイルス研究に役立てて行きたいと考えています。

福嶋：今回の学会参加を通じて、ウイルスは宿主細胞のしくみをうまくハイジャックして感染を広げていることを深く知りました。ユビキチンシステムもウイルスの標的となっています。ウイルス由来のユビキチンリガーゼや脱ユビキチン化酵素が多数存在しますし、宿主側のユビキチン関連酵素がウイルス感染によって制御される例もあります。一方、本研究領域で進めているケモユビキチンバイオロジーは、ケミカルツールによってユビキチンシステムを操作することによりシステムの理解を深めることを目的としています。奇しくも、ハイジャックする・操作するという点で、本領域参加者とウイルスの行為には類似点があります。ユビキチンシステムを理解する上で、ウイルスから私たちが学べることはまだまだ多いのではないのでしょうか。今後も研鑽を積み、ユビキ

チン研究者ではありますがウイルス学の発展に少しでも貢献したい、そして、ウイルスから学んだことをユビキチン研究に活かしたいと考えています。

山野：面白い視点の感想をありがとうございます。両グループの

今後の研究の発展を楽しみにしております。本日はありがとうございました。

高橋、江村、福嶋、氷見：ありがとうございました。

日本学士院賞を受賞

岩井 一宏（京都大学大学院 医学研究科 教授）

令和3年度の第111回日本学士院賞を受賞致しました。受賞題目は「直鎖状ユビキチン鎖の発見とその炎症応答制御に関する研究」で直鎖状ユビキチン鎖と唯一の生成酵素であるLUBACの発見とその生理学的、病理学的研究での受賞です。直鎖状ユビキチン鎖は偶発的な発見で、その発見を契機に病態生理学的な役割まで明らかにすることができ、日本学士院賞の受賞に至ったのは本当に幸運だったと思っています。研究室に集ってくれた皆さんの御蔭だと思っています。

私は内科医として自身のキャリアをスタートさせましたが、故あって医師の道ではなく、亡くなった妻とともに研究者としての道を歩むことを選択しました。日本学士院賞の受賞で、研究者としてauthorizeされた様な気持ちになっています。ようやく、その人生の選択も間違っていなかったのかな、と思える様になりました。

新型コロナウイルス感染症蔓延のために前年度の第110回日本学士院賞の授賞式が延期になっておりましたので、令和3年6月21日に第110回、111回の合同の授賞式が天皇、皇后両陛下のご臨席の下で開催されました。ただ、従来とは違う形式での授賞式となり、恩賜賞とエジンバラ公賞の受賞者だけが両陛下に研究内容をご説明する（従来は各受賞者が研究内容のポスターを作って、両陛下や皇室の方々にご説明する）など、短縮版の授賞式になりました。それでも、大変豊かな授賞式で、天皇、皇后両陛下におかれましてもこの授賞式にご臨席できたことを大変喜んでおられたと伺いました。

写真は井村裕夫日本学士院長から賞状を授与されたと

きのものです。井村先生は私の大学院の指導教授、かつ、結婚式の媒酌人の労を執っていただいた先生で、私の研究の経緯をよくご存じの先生です。井村先生から賞状を授与されたのは私にとっては格別の思い出になりました。

もう定年まで3年になりましたが、私の様な年寄りでもまだサイエンスを通して少しではあっても人類に貢献できることがあるかもしれないと思いつつ、研究を続けております。また、私の研究室だけではなく、本新学術領域に集っておられる若い人たちが素晴らしい研究成果を挙げて、世界のユビキチン研究を推進する研究者に育ってくださるのに微力ながら貢献できれば望外の幸せだと思い、もう少し頑張ろうと思います。



2021年度日本生化学会奨励賞を受賞

佐藤 裕介（鳥取大学大学院工学研究科 講師）

このたび「ユビキチンシグナルの構造生物学」という題目で2021年度日本生化学会奨励賞をいただき、2021年11月に開催された第94回日本生化学会大会ではコロナ禍のためオンライン形式とはなりましたが受賞講演もさせていただきますました。大変光栄に存じます。本奨励賞に関連する研究の多くは、私が東京大学定量生命科学研究所（旧分子細胞生物学研究所）在籍時に深井周也先生（現京都大学大学院理学研究科）のご指導のもとで行われたものです。深井先生には受賞講演の座長も引き受けていただき、心より感謝申し上げます。また、受賞対象となった研究は多くの先生方との共同研究により成し得たものです。先生方の中には本領域に参画されている方も多く、この場をお借りして厚くお礼を申し上げます。

本奨励賞は、脱ユビキチン化酵素やユビキチン結合ドメインがどのようにして特定の繋がり方のユビキチン鎖を識別しているのかを、結晶構造解析により数多く明らかにした、という研究で受賞いたしました。私がユビキチンの研究をはじめた2007年頃は、私自身不勉強であったという点もありますがユビキチン鎖の繋がり方で異なるシグナルを伝達するという事はよく知られておらず、ユビキチン鎖はプロテアソーム分解の目印として機能するシンプルな存在だという認識を持っていました。しかし、東京工業大学の駒田雅之先生に、「ユビキチンはどのリジン残基で連結するかによって機能が異なり、プロテアソームによるタンパク質分解のシグナルはK48結合型ユビキチン鎖で、K63結合型ユビキチン鎖はエンドサイトーシスのシグナルである。そしてAMSHとそのホモログであるAMSH-LPはK63結合型ユビキチン鎖を特異的に切断する」、という事を教わり、これは思ったより奥の深い分野だぞ、と感じた事を覚えています。また、繋がり方を変えるだけでユビキチンという1種類のタンパク質を使って異なるシグナルを伝達するというのは非常によくできたシステムですが、酵素やデコーダー分子がどのようにして繋がり方を識別しているのかは実際に構造を見てもないとわからないため、構造解析のターゲットとしても非常にやりがいのあるテーマでした。結晶構造解析には活性測定などの生化学的な実験とくらべてたくさんの試料が必要

になるため、どのようにしてユビキチン鎖を大量調製するのかが問題となりましたが、京都大学の白川昌宏先生にK63結合型ユビキチン鎖の合成方法を教わり、当時大阪市立大学の教授をされていた岩井一宏先生にE1の昆虫細胞の発現系をいただき、うまくK63結合型ジユビキチンの大量調製を行う事ができました（これは深井研究室で2年後輩の吉川さんが頑張ってくれました）。最終的にAMSH-LPとの複合体の構造決定にも成功し、AMSH-LPがK63結合型ジユビキチンの近位ユビキチンのK63の前後の配列等を識別することで繋がり方を見分けているという機構が明らかになりました。

その後も、岩井先生のグループによるLUBACが直鎖状ユビキチン鎖の合成を行うことの発見、数多くの鎖特異的な脱ユビキチン化酵素やユビキチン結合ドメインの発見、酵素反応を使ったK48、K63鎖以外のユビキチン鎖の合成方法の開発、といったユビキチン研究が世界中で進展してきました。このため構造解析のターゲットには事欠かず、多くの先生方のご指導・ご協力のもと数多くの構造解析にも成功し、今回の受賞に繋がりました。15年ほど携わってきたテーマですが、ユビキチン研究が進展することにさらに奥深い研究ができるようになってきたと思います。今後は分岐鎖などの複雑なユビキチン鎖の認識機構など未解明の点に取り組み、ユビキチン研究の進展の一助となるよう、より一層邁進いたします。



2021年度有機合成化学奨励賞を受賞

林 剛介（名古屋大学大学院 工学研究科 准教授）



この度、2021年度有機合成化学奨励賞を受賞いたしました。受賞研究タイトルは「新規ペプチド連結化学に基づくタンパク質の精密全合成」です。ペプチド固相合成とペプチド連結反応を組み合わせてタンパク質を作る「タンパク質化学合成法」は、20種類の天然アミノ酸以外の様々なアミノ酸が組み込まれた「人工タンパク質」の作製を可能にします。メチル化やアセチル化、リン酸化などの比較的小さな修飾に加えて、ユビキチン化など分子量の大きな修飾も部位特異的に導入可能なので、翻訳後修飾研究とはとても相性の良い方法です。しかし、その合成法はまだまだ発展途上で、特にアミノ酸数の多い高分子量タンパク質や膜タンパク質などの疎水性タンパク質の合成は未だに困難です。私の研究グループでは、新たなペプチド連結法の開発やペプチド連結に必要なチオエステル構造の新規合成法の確立などを通じて、タンパク質をより効率よく合成する技術の開発を行ってきました。本稿では、その内容について簡単に紹介させていただきます。

分子量の大きいタンパク質を合成するためには、複数のペプチドを連結する必要があります。しかし、連結回数が多くなるとその分精製回数も多くなり、その結果合成収率が低下してまいります。この問題を解決する方法として、複数のペプチド断片を精製することなく連結させる「ワンポットペプチド連結法」があります。効率の良いワンポット連結を実現するためには、ペプチド上の「保護基」を迅速かつ定量的にはずすことが重要なのですが、我々はパラジウムやルテニウムを中心に持つ有機金属錯体が効率的なワンポット反応に有用であることを見出しました。これは、有機金属錯体の脱保護活性が非常に高く、また同時に簡単に不活化することができる、という特徴のおかげです。本手法は、現状で最も効率の良いワンポットペプチド連結反応の一つであり、5つのペプチド断片をワンポットで連結させた初めての例、また200アミノ酸以上からなるタンパク質をワンポット連結で全合成した初めての例となりました。

一方、膜タンパク質などの疎水性タンパク質の合成では、連結するペプチド断片の水溶性の低さが問題となり、連結反応が行えない場合があります。そこで我々は、DNAを反応場として用いたペプチド連結反応を開発することでこの問題の解決に取り組みました。DNAは高い親水性を持つ分子

であり、疎水性ペプチドに連結することで、その水溶性を向上させることができます。さらにDNAの2本鎖形成能を利用することで、連結するペプチド同士を近接させ、反応加速効果も付与できると予想されました。本研究の結果、ペプチド連結反応がDNAの足場効果によって1000倍以上加速されること、疎水性のペプチド断片を連結可能であることを実証し、また3種類のペプチド断片をDNA上で同時に連結可能であることも実証することができました。

世界中でこれまでに最もよく利用されてきたペプチド連結反応は、NCL（Native Chemical Ligation）ですが、NCLを行うには、C末端にチオエステル構造を有するペプチドの合成が必要不可欠です。我々は水中でチオエステルへ効率よく変換することのできる、「CPI（システイン-プロリン-イミド）ペプチド」という新たなチオエステル前駆体分子を開発しました。CPIペプチドは、分子内変換型チオエステル前駆体の中では最も迅速かつ高効率でチオエステルへ変換可能であることを明らかにしました。このチオエステル前駆体を用いて、複数種類のタンパク質の化学的全合成を達成することができました。

ここまで受賞研究の内容について説明させていただきましたが、これらの研究は、本領域の班員でもある東京大学岡本晃充先生の研究室で私が助教時代に行ったものです。岡本先生には、本賞申請時の推薦人にもなっていただいたこと、また研究をすすめるための素晴らしい環境を用意してくださったことに厚くお礼申し上げます。また、研究の推進には長きに渡って研究生活を共にしてくれた学生諸氏の弛まぬ努力が必要不可欠でした。この場を借りて心より感謝いたします。今後さらに研究を進化させ、ライフサイエンス研究や医薬学研究に大きく貢献できるようなケモテクノロジーの開発と発展に入魂したいと思います。



オンライン授賞式の様子

令和4年度文部科学大臣表彰科学技術賞 (研究部門) を受賞

佐伯 泰 ((公財) 東京都医学総合研究所 プロジェクトリーダー・参事研究員)

この度、令和4年度科学技術分野の文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)を星薬科大学の大竹史明先生と共同受賞しました。受賞対象となった業績名は「ユビキチン修飾の高精度計測によるタンパク質分解機構の研究」です。科学技術賞は、“我が国の科学技術の発展等に寄与する可能性の高い独創的な研究又は開発を行った者が対象”でして、このような荣誉ある賞を賜りましたこと大変嬉しく存じます。

思い起こしますと、私が真の意味で本格的にユビキチン研究を開始したのは、岩井一宏先生が代表を務められた新学術領域研究ユビキチンネオバイオロジーにお誘い頂いたことがきっかけとなります。当時、ハーバード大学のGygi博士らを筆頭に海外では質量分析を用いたユビキチン研究が大きく進展しておりました。岩井先生は、日本のユビキチン研究の今後の発展のためには、ユビキチンに特化した質量分析解析技術が必要とお考えになり、私に声がかかったわけです。あまり深く考えず引き受けてしまったのですが、〇千万円もする質量分析計を実際に手にして、初めて事の重大さに気が付きました。研究費の原資は当然、国民の皆様の血税ですので、研究期間の5年間で〇千万円とすると、どれだけのデータと論文を出したらペイできるのか真剣に悩みました。運が良かったのは、手にしたのがThermo社のQ Exactiveという質量分析計だったことです。新製品だったのですが、四重極ー四重極ーOrbitrap(QqOrbi)の構成の定性解析も定量解析もできる高分解能

の質量分析計でして、約3ヶ月間、溶媒からMS2イオンの検出限界などユビキチンペプチドの高感度定量のための条件検討を繰り返しました。今では世界的なスタンダードとなったユビキチン鎖の超高感度絶対定量法(Ub-AQUA/PRM法)を確立した時は、これで何とか日本のユビキチン研究に貢献できる!と安堵したことを今でも覚えております。その後、大竹先生や松田先生らと化学修飾を受けたユビキチンの発見につながりましたし、非常に多くのユビキチン研究者と共同研究を進めることができて、研究の視野を広げることができました。また、私自身も、土屋光君ら優秀な研究室スタッフと共にCdc48/p97-RAD23-プロテアソーム軸を見出し、ユビキチン依存的プロテアソームLLPSの発見にもつながりました。

さて、表彰式は残念ながらオンラインでの参加となりましたが、式典の中で、末松信介文部科学大臣から、日本が科学技術立国として多様な研究者が腰を据えて研究に打ち込めるように環境を整備していきたい、というお言葉がございました。今回、私が受賞できた理由はまさにそこでして、私自身が素晴らしい環境でじっくりと研究をさせて頂けたということに尽きると思います。改めてではございますが、日本のユビキチン研究の環境を整備し、現在のユビキチン研究の発展にご尽力くださった田中啓二先生、岩井一宏先生に深く感謝したいと思います。また、研究室の皆様、共同研究者の皆様にも心から感謝申し上げます。



質量分析計を囲んで(左から土屋研究員、大竹先生、新井さん、佐伯)。この質量分析計は2018年10月に東大薬・村田研に移設となりました。今も現役とのこと。

令和4年度文部科学大臣表彰科学技術賞 (研究部門) を受賞

大竹 史明 (星薬科大学 特任准教授)

この度、(公財) 東京都医学総合研究所・佐伯泰領域代表と共同で、令和4年度科学技術分野の文部科学大臣表彰科学技術賞(研究部門)を受賞しましたことは、身に余る光栄です。この研究は、国立医薬品食品衛生研究所に在職中、東京都医学総合研究所・田中啓二先生、佐伯先生との共同研究として開始し、東京都医学総合研究所主席研究員を経て、星薬科大学に異動後も一貫して取り組んだ研究となります。田中先生、佐伯先生、京都大学・岩井一宏先生をはじめとして多大な御指導を賜りました諸先生方、また研究室の学生の皆さんに深く感謝申し上げます。

受賞対象となった研究課題は『ユビキチン修飾の高精度計測によるタンパク質分解機構の研究』です。ユビキチン修飾は多様な生命現象に関わっており、その異常は神経変性疾患やがん、免疫疾患など様々な疾病に深く関与します。加えて、ユビキチンを利用した疾患原因タンパク質の分解誘導(標的タンパク質分解誘導法)が次世代型の創薬コンセプトとして脚光を浴びています。しかしながら、分子作用機序の全貌には不明な点が多く残されています。

本研究では、ユビキチン修飾を計測する技術を開発し、その結果、タンパク質分解を駆動する新たな分子メカニズムの一端を発見しました。その中で、私が行った研究は主に2つあります。一つ目に、枝分かれしたユビキチン鎖(分岐型ユビキチン鎖、分岐鎖)の計測技術開発による細胞内機能の解明です。当時、細胞内にどの程度の分岐鎖が存在するのかは明ら

かになっておらず、ユビキチン研究の謎の一つとされてきました。私たちは最も主要なユビキチン鎖であるK48鎖とK63鎖が分岐したK48/K63分岐型ユビキチン鎖を計測し、この分岐鎖が細胞内に豊富に存在すること、炎症シグナル伝達やプロテアソーム依存性タンパク質分解に関わっていることを明らかにしました。

二つ目に、星薬科大学に異動後の仕事で、標的タンパク質分解誘導法によるタンパク質分解に関わるユビキチンコードと、その促進因子を明らかにしました。標的タンパク質分解誘導法は、薬剤によって標的とユビキチンリガーゼを近接させて標的のユビキチン化を誘導する技術ですが、ユビキチンコードの観点からの分子メカニズムはよくわかっていませんでした。本研究では、標的タンパク質分解の促進因子としてTRIP12、形成されるユビキチンコードとしてK29/K48分岐鎖を見出し、標的タンパク質分解誘導における固有の分子メカニズムを明らかにしました。

本研究で解明した選択的タンパク質分解の分子メカニズムは、神経変性疾患などの疾病の理解につながり、また標的タンパク質分解誘導法のメカニズムの解明は、がんなどの疾病に対する創薬に貢献し、大きな波及効果を有することが期待されます。今後は、今回の受賞研究をさらに発展させていきたいと思っています。幸い、星薬科大学では元気で優秀な学生さんたちに恵まれました(写真)。タンパク質分解を担うコードの全貌解明を目指して研究を進めたいと思っています。



日本薬学会第142年会学生優秀発表賞を受賞

秋月 慶乃 (星薬科大学大学院薬学研究科 大竹史明研究室 修士1年)

この度日本薬学会第142年会において、「標的分解薬によるcIAP1の分解機構」という演題で、学生優秀発表賞(口頭発表の部)を受賞いたしました。このような栄誉のある賞をいただき、大変光栄に思います。受賞の対象となった研究内容の概略をご紹介します。

近年、化合物によってユビキチン化を誘導し、疾患原因タンパク質の分解を引き起こす標的タンパク質分解誘導法が注目されています。標的タンパク質分解誘導法とは、PROTACやMolecular Glueなどの分解誘導薬を用いて、目的のタンパク質を分解によって機能阻害する技術です。この方法は創薬標的を拡大するコンセプトとして期待されていますが、分解誘導の詳しいメカニズムには不明な点が多く残っています。

そこで本研究は、分解誘導法における新たな分解メカニズムの解明を目的とし、分解に関わるユビキチンコードの解析とその形成に関わる補助因子の探索を行いました。私たちは炎症性シグナルに関わるE3リガーゼであるcIAP1を分解誘導する機構に焦点を当てました。cIAP1はIAPアンタゴニスト(以後IAP分解薬:がん治療薬として臨床試験中)に

よって自己ユビキチン化と分解が誘導され、その結果がん細胞のアポトーシスが引き起こされます。

そこでcIAP1の分解機構をユビキチンコードの観点で検討したところ、プロテアソーム非依存性シグナルとして知られているK63鎖が分解に関わることが示唆されました。そこでK63鎖がどのように分解を促進するのかを検討したところ、IAP分解薬依存的にK63鎖からK48とK11鎖が分岐するユビキチン鎖が形成されること、分岐鎖がプロテアソームと相互作用し、分解が促進されることが明らかになりました。さらに解析を進め、特定のE2酵素によるcIAP1の分解促進機構が明らかになりました。以上より、私たちは化合物によるタンパク質分解誘導に必要な新たな補助因子とユビキチンコードを発見しました。

今後は、引き続き標的タンパク質分解誘導法の高度化を目指し、ユビキチン化修飾によるタンパク質分解機構の詳細について研究していきたいと考えております。

今回の学会発表を通して自分の実験成果を知ってもらえる喜びや他人に伝えるという学びを得ることができました。この賞を励みに、より一層研究に邁進していく所存です。



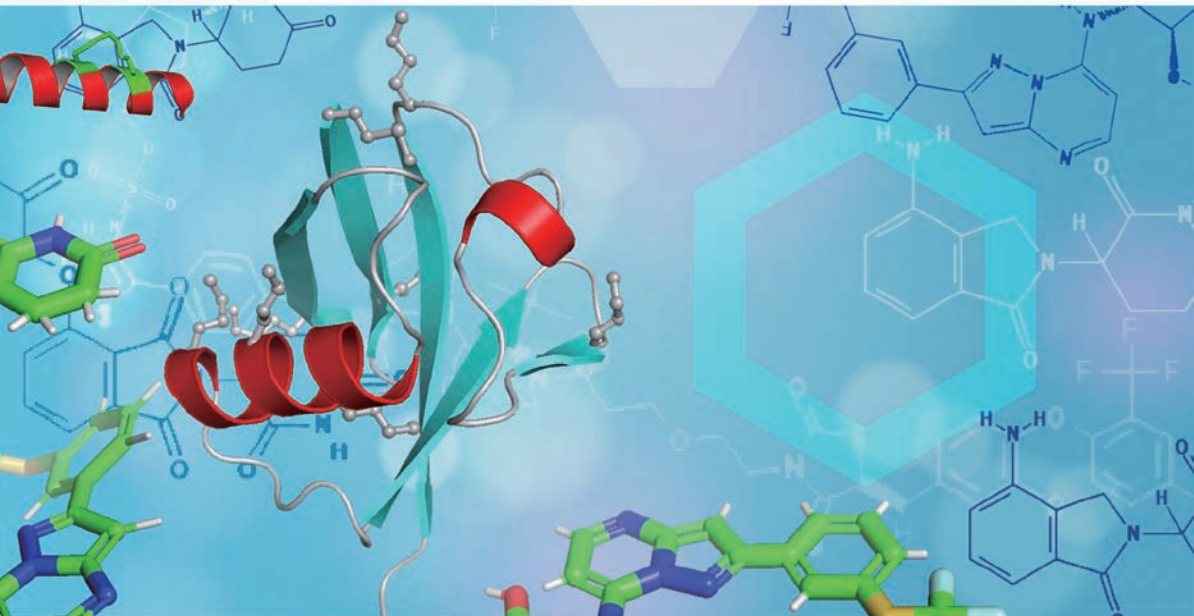
新学術領域研究ケモユビキチン主催国際会議 Ubiquitin New Frontier “from Neo-Biology to Targeted Protein Degradation”

会期: 2022年12月3日(土) ~ 12月4日(日)

会場: 東京大学伊藤国際学術研究センター 伊藤謝恩ホール

対象: アカデミアおよび企業の研究者300名

Ubiquitin New Frontier “ from Neo-Biology to Targeted Protein Degradation ”



Confirmed Invited Speakers

- 1) Aaron Ciechanover (Israel Technion, Israel)
- 2) Daniel Finley (Harvard Medical School, USA)
- 3) Alessio Ciulli (University of Dundee, UK)
- 4) Ivan Dikic (Goethe University, Germany)
- 5) Kylie Walters (NCI/NIH, USA)
- 6) David Komander (Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Australia)
- 7) Claudio Joazeiro (ZMBH, Germany)
- 8) Eri Sakata (University of Göttingen, Germany)
- 9) Hsueh-Chi Sherry Yen (Academia Sinica, Taiwan)
- 10) Hiroshi Handa (Tokyo Medical University, Japan)
- 11) Toshifumi Inada (The University of Tokyo, Japan)
- 12) Masato Kanemaki (National Institute of Genetics, Japan)

	December 3rd (Sat)	December 4th (Sun)
8:00		
9:00	Registration	Keynote lecture
10:00	Opening remarks	
11:00	Talk (Session 1)	Talk (Session 3)
12:00	Lunch	Lunch
13:00	Keynote lecture	Talk (Session 4)
14:00	Talk (Session 2)	
15:00	Poster Presentation	Coffee break
16:00		Talk (Session 5)
17:00	Welcome Party	Closing remarks
18:00		
19:00		
20:00		
21:00		

30 oral presentations (12 invited speakers, 18 project members)
50 poster presentations

新学術領域「ケモユビキチン」 第4回若手主体発表会に参加して

高橋 俊樹 (東京都立大学 理学研究科 生命科学専攻 特任助教)



平成30年度から発足した新学術領域研究「ケモユビキチン：ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア」も4年目を迎えました。今年度は2月11日から13日にかけて行われる領域班会議に先駆け、若手研究者の研究発表の場として「第4回若手主体発表会」が2月11日午前にオンラインで開催されました。11名の若手研究者が発表を行い、領域内の多くの研究者をまじえて闊達な議論が交わされました。私も若手として発表させて頂いたのですが、プログラムで確認した私以外の発表者の方々がみな学生であり、改めて自らの年を認識させられたことを覚えています。

私の所属する東京都立大学は東京の八王子にあり、発表前日から大雪が降っていました。私は研究室の学生とともに中止になった現地開催地に思いを馳せつつ、発表の準備をしていました。発表当日は雪による通行不全を考えて朝6時に起床し、眠い目をこすりながら研究室に向かいました。午前9時になり、いよいよ第4回若手主体発表会が開始されました。まずは主催である山野晃史先生による開会のご挨拶および主旨説明が行われ、続いて若手研究者による11題の口頭発表が行われました。発表は研究内容についてのプレゼンテーションが約9分間、その後の質疑応答が3分間、という形式で行われました。各発表者はケモテクノロジーを用いた最先端の研究結果を発表し、質疑応答では諸先生方、若手の学生からの多くの質問とともに、活気ある討論が行われていました。個人的には松浦佑大先生、谷口幸穂先生のCFTR関連ユビキチンリガーゼに関する研究が印象に残っており、かつて多数回膜貫通タンパク質の分解経路を、現在ユビキチンリガーゼを研究している私にとっても非常に勉強に

なる発表を聞かせていただきました。また、すべての発表がオンラインで行われたのですが、私自身はオンライン発表の勝手がわからず機材トラブルによる多大なご迷惑をおかけしてしまいました。主催の山野先生、座長の寺井琢也先生、川口充康先生および発表者の皆様にはこの場を借りて謹んでお詫び申し上げます。

すべての発表が終了したのち、領域代表である佐伯泰先生による総評および写真撮影をもって第2回若手主体発表会は終了しました。最後は私個人の感想となりますが、今後もこのような素晴らしい発表、交流の場がオンライン、現地開催を交えて続くことを願い、また、自身がそこに関わっていけるようにこれからも研究に励みたいと思います。



オンライン若手発表会の様子

新学術領域「ケモユビキチン」 第6回領域班会議 活動報告

前川 大志 (慶應義塾大学薬学部 専任講師)



2022年2月11日から13日の3日間の日程で、新学術領域ケモユビキチンの第6回領域班会議が開催されました。当初は対面会議が計画され、参加者全員が久しぶりの対面会議に心躍らせていましたが、新型コロナウィルス オミクロン株の感染急拡大に伴い、やむなくZoomによるオンライン開催となりました。領域代表の佐伯先生をはじめ、関係者の皆様は断腸の思いでのご決断であったと思います。私自身、2021年度から本領域の公募研究へ参画させて頂いておりますが、対面で領域の皆様に直接、お会いする事が未だ叶っておらず、本当に残念でした。しかし、“Science Never Stops”という事で、第5回の領域班会議と同様、オンライン開催となったものの、参加者のサイエンスに対する熱い思いは不変であり、極めて活発な議論が繰り広げられました。以下に、当日の様子を報告致します。

尚、本活動報告は関西学院大学の沖米田先生と分担して執筆しています。当方は、セッションII「標的タンパク質分解誘導①」、セッションIII「プロテアソーム経路」、セッションIV「ケモテクノロジー」を担当します。

セッションII「標的タンパク質分解誘導①」では、石川先生（東北大学）、寺先生（東京農工大学）、渡邊先生（理化学研究所）、当方（慶應義塾大学）、出水先生（国立医薬品食品衛生研究所）、内藤先生（東京大学）から発表がありました。石川先生は、疎水性タグの有用性、PROTACのフック効果をいかに解決するかについて発表されました。寺先生は、グアニン四重鎖によるタンパク質分解誘導の研究結果を発表され、核酸制御剤のPROTACとしての将来性について議論が行われました。渡邊先生からは、

in vitro系での β -TrCPに結合する低分子化合物に加え、c-Mycタンパク質分解に導く低分子化合物の細胞レベルでのスクリーニングの進捗と将来展望についての発表がありました。PROTACで使用する低分子化合物リガンドの拡充が期待されます。出水先生は、PROTACと標的タンパク質との結晶解析に挑まれており、その進捗を発表されました。ユビキチンリガーゼを含めた三者複合体の結晶が解かれることが期待されます。また、競争の激しいデコイ核酸型分解誘導剤開発の成果も発表されました（綺麗なお仕事で圧倒され、当方は感動しました・・・）。プロテインノックダウン研究の第一人者である内藤先生は、抗がん剤としてのタンパク質分解技術について発表されました。がん細胞特異的なSNIPERの開発は非常に有望な創薬開発になると思います。当方は、DNAアプタマーを用いたプロテインノックダウン法の開発の進捗を発表しましたが、他の先生方の素晴らしい発表と比較し、自分の進捗が遅れていると痛感し、精進せねばと思った次第です・・・。

セッションIII「プロテアソーム経路」では、林先生（名古屋大学）、佐伯先生（東京都医学総合研究所）、佐藤先生（鳥取大学）、深井先生（京都大学）、宮前先生（筑波大学）、川口先生（名古屋市立大学）、村田先生（東京大学）から発表がありました。林先生は、独自のペプチド合成法とユビキチン鎖に対するモノボディの成果を発表されました。領域内で非常に多くの共同研究を進められているのが印象的でした。佐伯先生からは、プロテアソームシャトル分子の最新の研究成果の話がありました。プロテアソームLLPSが色々な生理条件下で起きることが非

常に面白く、また最先端のプロテオミクス技術を駆使されて、研究を推進されておりました。佐藤先生は結晶解析を用いたRAD23によるK48鎖認識機構の発表をされました。また、蛍光タンパク質の強度変化をモニターする方法でp97の複合体様式を綺麗に示されておりました。深井先生は、結晶解析データを基にしたp97の機能阻害ペプチドの開発とその将来性を発表されました。有機化学を専門とされている先生方とのdiscussionが盛り上がりました。宮前先生は、脱ユビキチン化酵素の切断活性を調整することでタンパク質発現を制御する手法の開発についてのお話をされました。川口先生は、プロテアソーム依存的分解を可視化する蛍光プローブを緻密な分子設計を基に開発されておりました。細胞膜透過性の奥深さを感じました。村田先生は、プロテアソームへの介入による新たな標的タンパク質の分解法の開発、プロテアソームの機能活性化方法の可能性について発表されました。PROTAC、SNIPER等のプロテインノックダウンだけでなく、プロテアソーム自身の機能制御の重要性を感じました。

セッションIV「ケモテクノロジー」では、寺井先生（東京大学）、二木先生（京都大学）、高岡先生（東北大学）、Pradipta先生（東京工業大学）、岡本先生（東京大学）、佐藤先生（静岡大学）から発表がありました。寺井先生は、進化分子工学の大変分かりやすい説明と標的タンパク質に結合するペプチドの探索とその応用について発表されました。二木先生からは、ステーブルペプチドによる細胞内タンパク質間相互作用研究の進捗のお話がありました。ステーブルペプチドの詳細な説明があり、大変勉強になりました。今後、ペプチドや核酸などの中分子制御剤が医薬品として加速的に開発されていくと感じました。高岡先生は、ジャスモン酸関連転写因子依存的なタンパク質間相互作用の研究成果を発表されました。普段、当方は動物細胞や試験管内のタンパク質や核酸ばかりを扱っておりますが、植物においてもユビキチンシグナルが極めて重要であると再認識しました。Pradipta先生は、アザイド-アクロレインの反応を基軸としたケミカルバイオロジーを腫瘍モデルに見事に適用されておりました。膨大なデータに圧倒されました。岡本先生は、NVOCを用いた素晴らしい技術によるユビキチン鎖の化

学合成の成果を発表されました。化学合成の威力は凄いと感じ、また、こうした反応を美しく行う細胞のシステムにも改めて感動した次第です。昔、当方が学部学生だった時、当時の有機合成化学講座の柴崎正勝 教授の人工触媒に関する講義で柴崎先生が「私の目標は酵素に勝つことです」と仰っていた事を思い出しました。佐藤先生は、ユビキチン鎖を効率よく有機合成するためのペプチドに対する水溶性タグの開発について発表されました。

3日間に渡るオンライン会議でしたが、非常に濃密なものでした。1日目の講評で長田先生が、「1日中、色々な先生方の発表を聞いて勉強する事は、論文を30本読んだことと同じではないでしょうか」というコメントがありました。全くもってその通りで、当方も本当に勉強になりました。本領域のヘテロな環境は本当に素晴らしいと改めて感じました。異分野の先生方と積極的に交流して、共同研究などを推進していければと思います。当方の発表後、個人的にメールを下さった先生方に、感謝致します。今回の領域班会議の発表は全ての演題が本当に面白く、当方も少しでも面白いサイエンスを展開し、現所属の慶應義塾大学薬学部の学生さんをigniteして、一人でも多くの学生さんがサイエンスの道に足を踏み入れてくれるような教育活動をしていこうと思っております。2日目の永田先生の講評にございました「サイエンスを語る」には、まだまだ程遠い若輩者ですが、努力して参ります。3日目の講評として、田中先生からは「異分野融合がうまく進み、これぞ新学術。ケモユビキチンという造語が研究成果として具現化されていて素晴らしいと思います」というコメントがございました。また、田中先生からは人類の健康を守るための基礎研究と応用研究、プロテアソーム研究とケミカルバイオロジーの関係性の歴史についてもお話がありました。サイエンスの歴史を現場におられた当事者の先生から聞くことで、自分自身のサイエンスに対するモチベーションになった次第です。最後に、佐伯先生、世戸様、座長の先生方をはじめ、本領域班会議を企画・運営して下さいました関係者の皆様方に厚く御礼申し上げます。

新学術領域「ケモユビキチン」 第6回領域班会議 活動報告（その2）



沖米田 司（関西学院大学 生命環境学部 教授）

2022年2月11日より3日間にかけて、新学術領域「ケモユビキチン」第6回班会議がオンラインで開催されました。今回は前川先生（慶應大薬）との分担執筆とのことで、以下、私が執筆担当したセッションについて紹介いたします。

セッションI：ユビキチンとストレス応答

まず、川原裕之先生（東京都立大学）は「新合成タンパク質の品質管理におけるRabシャペロンの新しい機能」というタイトルで発表されました。Mislocalized proteinsの品質管理に関わるBAG6の新しい結合タンパク質（Rabシャペロン）を同定され、Rab シャペロンが mislocalized prion タンパク質のプロテアソーム分解を促進する機能を紹介されました。個人的にも非常に興味がある内容で、同様の機能をもつUBQLNとの関連性が非常に気になりました。次に、合山進先生（東京大学）が「シャペロン介在型E3リガーゼSTUB1を標的としたプロテオスタシス調節薬の開発」というタイトルで発表されました。今回の発表ではAlphaScreenやNanoBiT法などSTUB1とHsp70、Hsp90の相互作用を検出する多様な実験手法を紹介されました。また、STUB1機能において、Hsp70とHsp90で異なる機能があることを紹介されました。ケモテクノロジーでSTUB1とシャペロンの相互作用を増強し、分解促進を行うことを目指していると理解しましたが、シャペロンが結合した合成途中のタンパク質に影響しないのか気になりました。畠山鎮次先生（北海道大学）は「TRIM型ユビキチンリガーゼの物性と動作原理の解析」というタイトルで発表されました。特に、TRIMファミリー分子の新

しい基質を同定され、TRIMファミリー分子がヘッジホッグシグナルを介した一次繊毛の制御を行うことを紹介されました。また、TUBE-E3法を用いてPROTACのE3ネオ基質の網羅的解析を紹介されました。ネオ基質の同定が、PROTAC副作用の予測に利用できるということで、非常に重要なアプローチだと感じました。山野晃史先生（東京都医学研）は「OPTN-TBK1の活性化を介した損傷ミトコンドリア分解」というタイトルで発表されました。TBK1のリン酸化によるオートファジーアダプターOPTNの機能制御を紹介され、OPTN人工抗体（ナノボディ）によるPPI阻害によりマイトファジーを阻害することを紹介されました。私もPPI阻害を目指しているので、是非、人工抗体を使ってみたいと思いました。森戸大介先生（昭和大学）は「もやもや病ユビキチンリガーゼの変異による自然免疫異常」というタイトルで発表されました。もやもや病の原因タンパク質ミスチリン（RNF213）変異体のミトコンドリアへの影響や、強毒性の変異体と弱毒性の変異体で異なる表現型を引き起こすことを紹介されました。野生型ミスチリンは脂肪滴に局在するそうですが、変異体はミトコンドリアや小胞体に局在するそうで、局在変化のメカニズムが気になりました。上田洋司先生（藤田医科大学）は「UBL3ケモテクノロジーによるユビキチン化とUBL3化のクロストーク機構の解析」というタイトルで発表されました。UBL3化がexosome輸送シグナルであることを見出されており、網羅的解析からexosome輸送制御に関わる新規分子を同定されたことを紹介されました。また、がん免疫療法の耐性化にUBL3化が関与することを紹介され、臨床応用されている薬剤がUBL3化を阻害することを紹介され

ました。基礎研究から臨床研究まで幅広く研究を行っており、非常に感銘を受けました。松沢厚先生（東北大学）は「ユビキチンケモテクノロジーを活用した細胞生死バランス制御による疾患治療戦略の開発」というタイトルで発表されました。がん抑制遺伝子 STK11 とその制御に関わるユビキチンリガーゼ MEX3B の相互作用を阻害する抗菌剤を見出されており、抗菌剤の構造展開に有益な基礎知見や、マウスモデルでの腫瘍抑制効果を紹介されました。また、セフェム系抗菌薬が p62 とユビキチンの結合を促進し、ALIS 形成とパーナトスを促進することを報告されました。抗菌薬も色々な作用機序があり、副作用出現などに、今回発表された新たな作用機序などが関与するのかと気になりました。

セッションV：ユビキチンシグナル

岩井一宏先生（京都大学）が「認識タンパク質による直鎖状ユビキチン鎖シグナルの制御機構の解析」というタイトルで発表されました。今回は直鎖状ユビキチン鎖結合タンパク質として新しい分子を同定され、新規結合分子がオートファジーを介して IRAK1、MyD88 等を分解し、NF- κ B シグナルを抑制するという新規制御機構を発表されました。マウス解析までしっかり行われた素晴らしいご発表でした。池田史代先生（九州大学）は「RBR型ユビキチンリガーゼHOIL-1Lによる炎症シグナルの制御」というタイトルで発表されました。LUBAC 構成因子である HOIL-1L の RBR ligase domain のユビキチンエステル化や、炎症シグナルへの機能を変異マウス等で解析された結果を紹介されました。HOIL-1L のNanobody も作られており、ケモテクノロジーによる HOIL-1L の機能制御について紹介されました。及川大輔先生（大阪市立大学）は「脱ユビキチン化酵素OTUD1はNF- κ BやKEAP1を介して細胞死を制御する」というタイトルで発表されました。網羅的スクリーニングから NF- κ B 活性を抑制する DUB として OTUD1 を同定され、OTUD1 の作用機序を詳細に解析された結果を発表されました。また、マウス解析等から、OTUD1 が自然免疫応答や炎症性疾患に関与することを紹介されました。西山敦哉先生（東京大学）は「ユビキチンリガーゼUHRF1によるラギング鎖複製制御」というタイトルで発表されました。DNAメチル酵素と不可逆的な架橋結合を形成することで

DNA脱メチル化を誘導する核酸アナログ 5-aza-dCTP 処理によりクロマチンに集積するタンパク質を網羅的に同定され、DNAリガーゼ1と UHRF1 による岡崎フラグメント連結に関する作用機序を紹介されました。松尾芳隆先生（東京大学）は「ケモテクノロジーを活用したリボソームユビキチンコードの解読と制御」というタイトルで発表されました。Ribosome-associated Quality Control (RQC) 活性の制御に関わる2種類の DUB を同定され、2種類の DUB が異なるリボソームユビキチンコードの制御を介して、RQC 活性を正に制御することを紹介されました。福嶋俊明先生（東京工業大学）は「USP8の機能異常は様々な疾患の発症・増悪に関与する」というタイトルで発表されました。クッシング病の原因となる USP8 変異体は、異常活性化されており、STAM との結合を介してネオ基質を脱ユビキチン化します。本発表では、USP8-STAM複合体を阻害する化合物スクリーニングの結果を紹介されました。また、USP8は自己阻害機構があり、自己阻害ドメインを模倣した阻害剤開発の紹介もありました。最後に、レンチウイルス増殖に関する USP8 の機能について、紹介されました。USP8 は多様な生理機能に関わっており、多くの疾患に関与する興味深い分子だなと感じました。

セッションVI：先端研究・標的タンパク質分解誘導法

始めに沖米田（関西学院大学）が「CFTR 関連ユビキチンリガーゼのリガンド探索と作用機序の解析」というタイトルで発表しました。嚢胞性線維症の治療標的として CFTR 関連 E3 リガーゼを同定しており、E3 リガンドの作用機序を紹介しました。近藤先生（理研）との共同研究で見出した化合物が E3 リガーゼ RFFL や RNF5、RNF185 の機能を阻害し、CFTR 変異体の分解と嚢胞性線維症の治療剤の効果を増強することを紹介しました（多くの共同研究者の方々のおかげで、順調に進んでおり、大変感謝しております）。高橋宏隆先生（愛媛大学）は「USPファミリー脱ユビキチン化酵素を標的としたタンパク質量制御化合物の開発」というタイトルで発表されました。以前同定されたDUB阻害剤の特異性や、DUB 活性阻害の作用機序について紹介されました。私もDUB研究を行なっているのですが、特異的な USP リガンドや阻害剤を同定して頂きたいと思いました。伊藤

拓水先生（東京医科大学）は「CRBN結合化合物の作用機構の解析」というタイトルで発表されました。血管新生阻害作用を有するサリドマイド誘導体により、CRBN と結合するネオ基質を同定され、さらに網羅的解析より、血管新生に関与する下流分子を同定されたことを紹介されました。また、CRBNの天然リガンドを探索され、候補分子を発見されたことを紹介されました。山中聡士先生（愛媛大学）は「近接バイオチン化酵素を用いたタンパク分解誘導剤依存的なタンパク質-E3リガーゼ 相互作用解析技術」というタイトルで発表されました。BioID を改良した AirIDを紹介され、CRBN-AirID を用いて、新たなネオ基質を同定されたことを紹介されました。また、CRBN-AirID発現マウスを用いて、マウス個体でもネオ基質同定が可能であることを紹介されました。大竹史明先生（星薬科大学）は「分解誘導剤によって誘導される新奇ユビキチンコード」というタイトルで発表されました。cIAP degrader により誘導されるユビキチンリガーゼ cIAP 分解の分子機構を明らかにされ、ユニークなユビキチンコードがcIAP1 の急速な分解に関与することを紹介されました。今回明らかにされた分子機構が、ユビキチンリガーゼ自身のターンオーバーに関与することを紹介されました。新しい制御機構で、非常に興味深く拝聴させて頂きました。近藤恭光先生（理化学研究所）は「新規UbTACsのためのリガンド化合物の探索 -CF関連E3リガーゼのリガンドの探索について-」というタイトルで発表されました。沖米田と共に進めているRNF5、RNF185 リガンド探索で、CFTR 変異体の分解を抑制する化合物を同定したことを紹介されました。また、

RNF5、RNF185 の活性を阻害しないリガンド化合物の構造活性相関を紹介され、今後、ERAD 誘導剤として使用するキメラ化合物構築の戦略を紹介されました。近藤先生は今年度で理研を退職するそうで、最後に後任者の紹介がありました。私事ですが、近藤先生には3年間共同研究を行なって頂き、大変感謝しています。本班会議の最後のスピーカーとして、吉田稔先生（理化学研究所）が「ユビキチン機能制御のためのケミカルバイオロジー」というタイトルで発表されました。スプライシング反応を阻害するSpliceostatin A により生じたイントロン配列に由来する短縮型異常タンパク質の網羅的解析の結果を紹介されました。イントロン由来配列は特定のアミノ酸に富んでおり、短縮型異常タンパク質が凝集体を形成すること、細胞ストレス応答を起こすこと、mTORC不活性化を起こすことを紹介されました。これらの作用機序がSpliceostatin Aの抗がん活性に関与することを紹介されました。

以上、3日間に渡り、多岐にわたるユビキチン研究の最新成果が発表されました。多くの未発表データも紹介され、これからも非常にハイレベルな論文発表が継続されることを確信しました。共同研究が非常に活発であることが本領域（ケモユビキチン）の特徴であると、アドバイザーの先生が仰っておりました。新しく後期から参加された方々のケモテクノロジーも非常に魅力的で、今後、さらに領域内の共同研究を行いたいと思いました。次回の班会議はオンサイトで開催できることをお祈りします。

学会活動報告

新学術ケモユビキチン第5回班会議

日時：2021年6月26日（土）
会場：オンライン
世話人：佐伯 泰（都医学研）

第3回ケモユビキチン若手主体発表会

日時：2021年8月28日（土）13：30～17：30
会場：オンライン
世話人：山野 晃史（都医学研）、佐伯 泰（都医学研）
講演者：柿原 慧遵（東工大D2）、宮下 諒太（東京大D3）、宇津木 優樹（筑波大D1）、郝 楊穎（東京大D1）、中山 美涼（東北大M1）、Yusen Men（東京大M2）、平井 景梧（東北大M2）、清田 真由（九州大B4）、李 思涵（東北大D2）、宮内 真帆（東京都立大D2）、鎌田 優香（関西学院大D1）、横沢 拓海（東北大D1）

第101回日北海道医学大会総会

日時：2021年10月2日（土）
会場：札幌グランドホテル
オーガナイザー：畠山 鎮次（北海道大）
講演者：総括班評価者 田中 啓二先生（都医学研・理事長）

第94回日本生化学会大会

日時：2021年11月3日（水）～5日（金）
会場：パシフィコ横浜ノース（みなとみらい）Web開催
オーガナイザー：大竹 史明（星薬科大）、深井 周也（京都大）
講演者：佐伯 泰（都医学研）、西山 敦哉（東京大）、大竹 史明（星薬科大）、深井 周也（京都大）

星薬科大学シンポジウム・新しい薬のモダリティ

日時：2021年11月17日（水）13：00～18：00
会場：オンライン
講演者：総括班評価者 田中 啓二先生（都医学研・理事長）、大竹 史明（星薬科大）

第40回日本認知症学会学術集会

日時：2021年11月26日（金）～28日（日）
会場：東京国際フォーラム
オーガナイザー：石川 稔（東北大）、内藤 幹彦（東京大）
講演者：大竹 史明（星薬科大）、石川 稔（東北大）、内藤 幹彦（東京大）

第44回日本分子生物学会年会

日時：2021年12月1日（水）～3日（金）
会場：パシフィコ横浜
オーガナイザー：佐伯 泰（都医学研）、内藤 幹彦（東京大）
講演者：佐伯 泰（都医学研）、内藤 幹彦（東京大）、伊藤 拓水（東京医科大学）、大竹 史明（星薬科大）、林 剛介（名古屋大）、池田 史代（九州大）

Pacificchem2021 “The Chemical Biology of Ubiquitination: Structures, Dynamics and Mechanisms”

日時：December 16-21, 2021
会場：Honolulu, Hawaii, USA（オンラインとのハイブリッドイベント）
講演者：深井 周也（京都大）

第4回ケモユビキチン若手主体発表会

日時：2022年2月11日（金・祝）9：00～12：00
会場：オンライン
世話人：山野 晃史（都医学研）、佐伯 泰（都医学研）
講演者：三島 祐悟（東北大 M1）、永沼 美弥子（横浜国立大 D1）、谷本 翔汰（東京大 M1）、杉村 奎汰（東京大 M1）、氷見 雄哉（東工大M2）、柿原 慧遵（東工大D2）、高橋 俊樹（東京都立大 特任助教）、竹中 一希（藤田医科大B3）、松浦 佑大（関西学院大M1）、谷口 幸穂（関西学院大M1）、郝 楊穎（東京大 D1）

新学術ケモユビキチン第6回班会議

日時：2022年2月11日（金・祝）～13日（日）
会場：オンライン
世話人：佐伯 泰（都医学研）

アウトリーチ活動

東大駒場リサーチキャンパス公開2021

「生命分子の急所を狙撃する小さなスナイパーたち～生命を知るための合成化学～」（オンライン）
日時：2021年6月12日
世話人：岡本晃亮（東京大）

東京都医学総合研究所連携大学院説明会 特別講演「タンパク質を狙って壊す細胞内のしくみ」（オンライン）
日時：2021年5月9日
世話人：佐伯 泰（都医学研）

仙台育英学園高等学校 医療系高大連携講座「細胞はどのようにしてストレスに適応するのか？」
日時：2021年7月17日
世話人：松沢 厚（東北大）

関西学院大学 オープンキャンパス 模擬講義「膜タンパク質を治して難病を治療する」（オンライン）
日時：2021年8月7日
世話人：沖米田司（関西学院大）

東京農工大学オープンキャンパス（東京農工大学工学部）研究紹介「グアニン四重鎖と創薬」
日時：2021年8月11日
世話人：寺 正行（東京農工大）

第8回メディカルサイエンスカフェ（高校生を対象とした大学見学プログラム、オンライン開催）
日時：2021年8月19日
世話人：上田洋司（藤田医科大）

（公社）有機合成化学協会 研究部会第5回勉強会 ニューモダリティと有機合成化学「タンパク質分解を誘導する化合物」（オンライン）
日時：2021年8月19日
世話人：内藤幹彦（東京大）

第20回東京大学ホームカミングデイ「タンパク質分解技術と創薬 ～病気の原因となる悪いタンパク質を壊す～」（オンライン）
日時：2021年10月16日
世話人：内藤幹彦（東京大）

第11回CSJ化学フェスタ2021 「Add Perseverance to Your Passion: The Long and Rocky Academia Pathway.」（オンライン）
日時：2021年10月21日
世話人：Ambara R. Pradipta（東工大）

第12回 Tokyo Tech Indonesian Commitment Award 2021 「Thriving in Your Research Career: My Personal Experience – Hints & Tips.」
日時：2021年10月23日
世話人：Ambara R. Pradipta（東工大）

日本離床学会 教育セミナー「重症患者における筋代謝の新常識～ユビキチン・プロテアソーム～」（オンライン）
日時：2022年1月9日
世話人：佐伯 泰（都医学研）

東京工業大学 細胞制御工学研究センターコロキウム「タンパク質分解技術と創薬」（オンライン）
日時：2022年1月20日
世話人：内藤幹彦（東京大）

第1回次世代モダリティセミナー ～細胞内タンパク質を標的とする次世代モダリティ～「細胞内タンパク質分解技術と創薬」（オンライン）
日時：2022年2月3日
世話人：内藤幹彦（東京大）

創薬機構構造展開ユニット・製薬協コンソーシアム共催 イノベーション人材育成セミナー「タンパク質分解技術と創薬」
日時：2022年2月15日
世話人：内藤幹彦（東京大）

今後の関連ミーティング・シンポジウム情報

第16回日本ケミカルバイオロジー学会年会 https://jscb.jp/8-16-2.html 日程：2022年5月30日（月）～6月1日（水） 場所：富山国際会議場 領域関連 石川稔先生が本新学術領域のミニシンポジウムをオーガナイズします。石川先生、大竹先生、伊藤先生、林先生がケモユビキチン研究を紹介します。
第74回日本細胞生物学会大会 https://confit.atlas.jp/guide/event/jscb2022/top?lang=ja 日程：2022年6月28日（火）～30日（木） 場所：タワーホール船堀 領域関連 佐伯泰先生が本新学術領域の共催シンポジウム「ユビキチン研究のニューフロンティア」をオーガナイズします。本領域からは村田先生、佐伯先生、山野先生、石川先生、及川先生がケモユビキチン研究を紹介します。
第95回日本生化学会大会 https://www2.aeplan.co.jp/jbs2022/ 日程：2022年11月9日（水）～11日（金） 場所：名古屋国際会議場 領域関連 佐伯泰先生と村田茂穂先生が本新学術領域の共催シンポジウム「ユビキチン・プロテアソーム研究のニューフロンティア」をオーガナイズします。本領域からは佐伯先生、村田先生、川原先生、大竹先生、林先生、出水先生がケモユビキチン研究を紹介します。

第45回日本分子生物学会年会 https://www2.aeplan.co.jp/mbsj2022/ 日程：2022年11月30日（水）～12月2日（金） 場所：幕張メッセ 領域関連 村田茂穂先生と佐伯泰先生が本新学術領域の共催シンポジウムをオーガナイズします。
新学術領域研究ケモユビキチン主催 国際シンポジウム “Ubiquitin New Frontier ~from Neo-Biology to Targeted Protein Degradation” 日程：2022年12月3日（土）～12月4日（日） 場所：東京大学伊藤謝恩ホール 領域関連 本国際会議では、ノーベル賞受賞者やユビキチン創薬の第一人者を招聘し世界の最新の研究動向を紹介するとともに、領域班員を中心に日本発のユビキチンの新しいバイオロジー研究や化学ツールなどを紹介します。 備考：2022年6月ホームページ公開予定

編集後記

「ケモユビキチン」のニュースレター第4号が完成しました。昨年度も新型コロナウイルス感染拡大防止措置のため、ほとんどの国内外の学会はオンライン開催となってしまうしました。通常、ニュースレターには海外学会参加レポートや海外渡航記を掲載して、研究内容にプラスした情報を提供できることに付加価値があると考えているので、残念でなりません。ただ、そのような状況の中でもケモユビキチンに関する多くの研究成果と分解誘導剤の開発がなされていること、また班員の方が多方面で表彰を受けており、その受賞コメントを多く掲載できたことは喜ばしいことと思います。

本号表紙の中央に鎮座している2つの化合物構造式は国立医薬品食品衛生研究所の出水先生らのグループによって開発された「エストロゲン受容体を標的としたデコイ核酸型PROTAC」と「造血器型プロスタグランジンD合成酵素を標的としたPROTAC」です。有機化合物とタンパク質構造に加えて核酸も表紙を飾ることになり、ユビキチン制御の多様なツールが開発されていることを示しているのではないのでしょうか。次号の表紙を飾るような新規化合物があればご連絡ください。また、皆様の研究に関連したミニレビュー、学会参加報告、本ニュースレターの誌面に活用できるお写真などのご寄稿は常時、お待ちしておりますので、ご提供よろしくお願いします。

さて、話は大きく変わりますが...

稲垣理一郎が原作の「Dr. STONE」は2017年から週刊少年ジャンプに掲載されたSFサバイバル・ファンタジーコミックです。ある日地球上の全人類が一斉に石化するというファンタジーコミックならではの現象に襲われます。意識を保ったまま3700年後に石化が解けた主人公の石神千空と大木大樹は、原始の環境で文明の再建に向けて活動を始めます。初期設定がいかにSFファンタジーであるため好き嫌いはあると思いますが、「科学は地道な探究」であること、「得意分野の異なる者が協力することで科学技術を発展させることができる」というメッセージは我々の研究に通ずるものがあるのではないのでしょうか。コロナ生活3年で我々の研究活動も少なからず影響を受けていると思います。コロナ以前の研究体制を回復しようと努力するのか、はたまた未だ夜明けの見えないコロナ生活に順応して、新しい研究スタイルを築いていくべきか。今年も考えさせることが多くあります。

(山野)

2018-2022年度 文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究

ケモテクノロジーが拓く ユビキチンニューフロンティア ニュースレター

第4号 2022年6月発行

編集人	山野 晃史(東京医科歯科大学)
発行人	佐伯 泰(東京都医学総合研究所)
発行所	新学術領域「ケモユビキチン」領域事務局 東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
TEL	03-5841-4800
E-MAIL	ubiquitin@mol.f.u-tokyo.ac.jp
印刷所	株式会社トライス
領域ホームページ	http://www.ubiquitin.jp/