

細胞内のユビキチン鎖長解析

土屋 光, 佐伯 泰

ユビキチンシグナルは、多種多様な構造を持つユビキチン修飾が特定のデコーダー分子に認識されることにより情報が伝達されると考えられている。ユビキチン修飾の構造は、ユビキチン鎖の「種類」、「長さ」、「複雑さ」、「翻訳後修飾」の四つの要素により決定されるが、これらの要素を正確に解析する手法は完全には確立されておらず、ユビキチンシグナル発動の機構は未解明な点が多い。特に、複雑なユビキチン鎖を持つ生物試料からユビキチン鎖の鎖長情報を取得する方法は存在せず、重要な要素の一つであると想定されるユビキチン鎖の「長さ」についてはほとんど議論されてこなかった。本稿では、細胞内におけるユビキチン鎖の「長さ」とその制御機構について我々の知見とともに紹介したい。

1. はじめに

タンパク質のユビキチン化は、プロテアソームの分解シグナルとして研究が進展し、細胞周期の進行やシグナル伝達、タンパク質の品質管理などに必須の役割を果たすことが明らかとなり、現在ではユビキチン依存的なタンパク質分解の重要性は生命科学全般に深く浸透している。その後、ユビキチン修飾がタンパク質の分解シグナル以外にも膜タンパク質の輸送やDNAダメージ修復など広汎な細胞機能を制御することが明らかとなってきた。ヒトゲノムにはユビキチン関連因子が1000種類以上コードされており、ユビキチン修飾によるタンパク質の機能制御は非常に複雑なものであると考えられる。ユビキチン修飾が多様な生命現象を制御できる要因として、関連因子の多様性のみならず、ユビキチン修飾が多種多様な構造をとりえることがあげられる。ユビキチン修飾にはモノユビキチン化と8種類の異なる構造のポリユビキチン鎖（異なるリシン残基を

介して連結したK6鎖、K11鎖、K27鎖、K29鎖、K33鎖、K48鎖、K63鎖および、N末端のメチオニンを介して連結したM1鎖）が存在する。さらに、異なる種類のユビキチン鎖が連結した混合鎖や、一つのユビキチンに複数のユビキチン鎖が付加した分岐鎖、リン酸化やアセチル化などのユビキチン分子自身への翻訳後修飾など複雑な構造を持つユビキチン修飾も細胞内に存在することも明らかとなってきた。これら多種多様な構造のユビキチン修飾が使い分けられ、それぞれ特異的なリーダータンパク質（ユビキチン結合タンパク質）に認識されることで標的タンパク質の運命や機能が決定されることが考えられており、ユビキチン修飾に内包された機能情報は“ユビキチンコード”と称されるに至っている¹⁾。

このように非常に複雑なユビキチン修飾だが、ユビキチン修飾の高次構造は1) ユビキチン鎖の「種類」（モノユビキチン化または8種類のユビキチン鎖）、2) ユビキチン鎖の「長さ」、3) ユビキチン鎖の複雑さ（混合鎖や分岐鎖）、4) ユビキチン自身への翻訳後修飾の四つの機能的な要素から成り立つと考えられる（図1）。これら要素を正確に解析することにより、ユビキチンコードの正確な理解につながると考えられる。ユビキチン研究の進展に伴い、さまざまな手技、手法が開発されてきたが、現在の我々の知見は断片的かつ限定的でありユビキチンシグナル発動のメカニズムには不明な点が多く残されている。ユビキチン鎖の「種類」や「翻訳後修飾」については鎖特異的抗体や質量分析計を用いた解析により²⁾、「複雑さ」についてもUC BerkeleyのRapeのグループや大竹らにより、K11/K48およびK48/K63分岐鎖の解析が進められておりその機能が

東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室（〒156-0506 東京都世田谷区上北沢2-1-6）

A novel method to determine the chain length of the polyubiquitinated proteins

Hikaru Tsuchiya and Yasushi Saeki (Laboratory of Protein Metabolism, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, 2-1-6 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920014

© 2020 公益社団法人日本生化学会

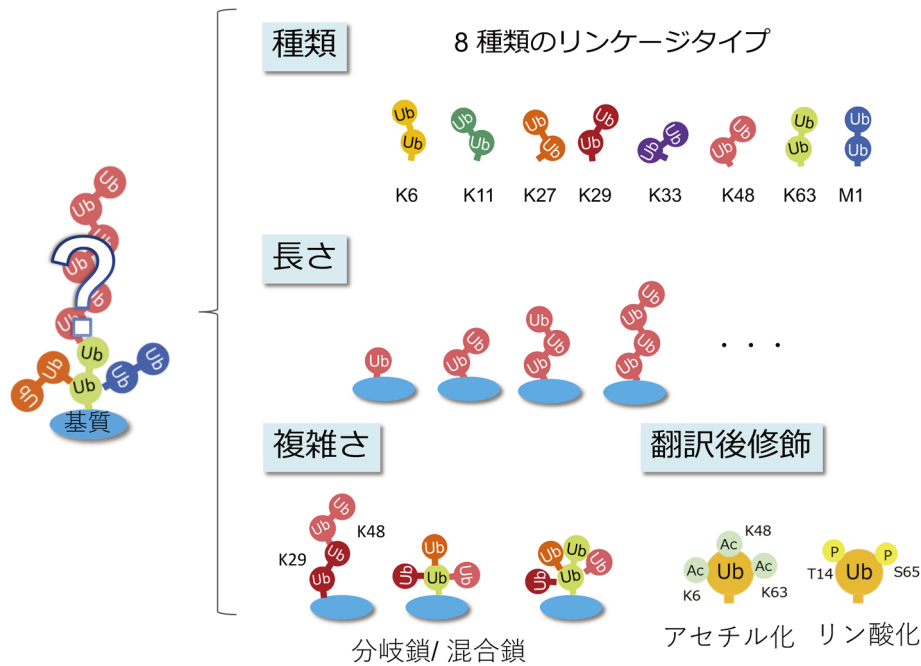


図1 ユビキチン修飾の機能的要素
 ユビキチン修飾は8種類のリンケージタイプ、ユビキチン鎖の長さ、複雑さ、ユビキチン分子に対する翻訳後修飾の四つの要素から構成されると考えられる。Ub：ユビキチン，Ac：アセチル基，P：リン酸基。

明らかになりつつある^{3,4)}。しかし、ユビキチン鎖の「長さ」については、機能上重要であることが示唆されているが長らく見過ごされてきた。

2. ユビキチン鎖の鎖長測定法の開発

1) なぜユビキチン鎖長を測定するのが困難であるのか？

では、なぜ細胞内のユビキチン鎖の長さについてあまり議論されてこなかったのでしょうか？理由は明確でこれまで解析手法そのものが存在しなかったからである。従来、基質上のユビキチン鎖の長さは電気泳動の移動度のシフト（基質タンパク質の修飾型と非修飾型の分子量の差異）で見積もられてきたが、近年の網羅的な解析により細胞内のユビキチン化基質の多くが複数のユビキチン化サイトを持つことが報告され、たとえば、四つのユビキチン鎖が基質に付加された場合にも複数の可能性が考えられる^{5,6)}（図2a）。さらにユビキチン鎖のリンケージタイプや分岐を考慮すると非常に多くの可能性が考えられ、電気泳動の移動度だけではユビキチン鎖長を正確に測ることは不可能である。

2) ユビキチン鎖の長さを測定するには？

ユビキチン化基質のユビキチン鎖の長さを測定するには、基質の根元からユビキチン鎖を *en bloc* で外す酵素が存在すれば、それを用いるのが理想的である。最初に思いつくのは脱ユビキチン化酵素であるが、残念ながらこれまで報告されている脱ユビキチン化酵素はすべて endo-切断活性を持ち、ユビキチン鎖の根元を特異的に切断することはできない。また、プロテアソームの脱ユビキチン化酵素

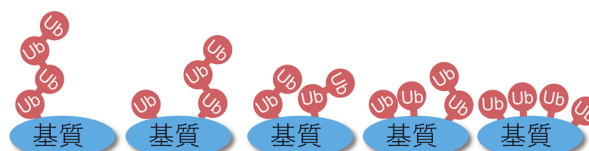
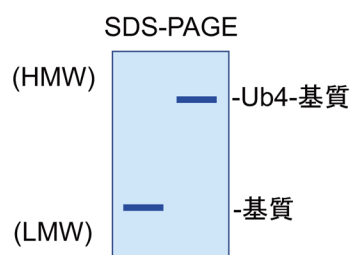
Rpn11は近位（proximal）のユビキチンを切断することでユビキチン鎖を除去できるが⁷⁾、この反応はプロテアソームのATPaseサブユニットによる基質のアンフォールディングと共役しているため実用的でない。そこで、トリプシン消化とユビキチン鎖プロテクターを用いたアプローチ Ub-ProT（Ub chain protection from trypsinization）法を考案した^{8,9)}（図2b）。ユビキチンは非常に強い構造を持つため、非変性条件下でトリプシンにより切断するとユビキチン鎖のつなぎ目である Arg74 が選択的に切断される¹⁰⁾。一方、ユビキチン鎖をプロテクターにより保護した状態でトリプシン消化すると、ユビキチン鎖をインタクトなまま基質タンパク質から切り出せるというアイデアである。ユビキチン鎖プロテクターとしては、ユビキチン鎖に対する高親和性プローブとして知られているユビキチン結合ドメインをタンデムにつないだ人工タンパク質 TUBE（tandem ubiquitin binding entity）を改変し¹¹⁾、TUBE内のアルギニンをアラニンに置換したトリプシン耐性（trypsin-resistant）TUBE（TR-TUBE）を用いた¹²⁾。このTR-TUBEを用いた Ub-ProT法は、リンケージタイプにより保護効率が異なるものの、さまざまな長さの遊離のポリユビキチン鎖をトリプシン消化から保護できることが明らかとなった。よって本手法がユビキチン鎖長決定に有用であることが確認された。

3. 細胞内におけるユビキチン鎖長解析

1) プロテアソーム分解シグナルにおけるユビキチン鎖の長さは？

四つ以上の長さの K48 結合型ユビキチン鎖がプロテア

(a) e.g. Ubが四つ付加された基質



- ・8種類のリンケージタイプ
- ・混合鎖/分岐鎖
- ・翻訳後修飾 (リン酸化, アセチル化…)

(b)

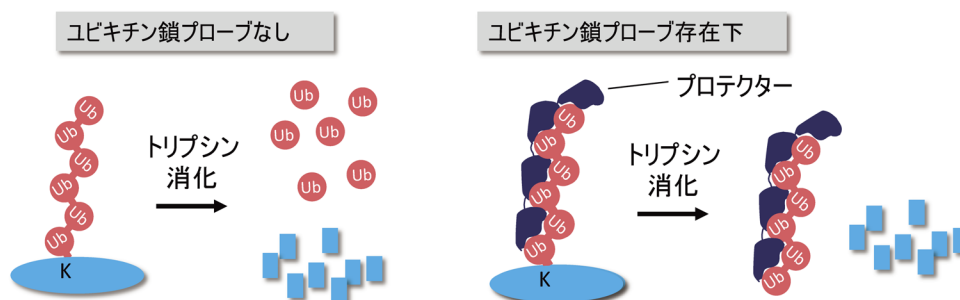


図2 ユビキチン鎖長決定法の開発

(a) ユビキチンが基質に四つ付加された場合の電気泳動での移動度のシフト (左図) とユビキチン鎖の組成の可能性 (右図). (b) Ub-ProT (Ub chain protection from trypsinization) 法の概念図. 非変性条件下でトリプシン消化を行うと基質タンパク質とユビキチン鎖は消化されるが (左図), TR-TUBEなどのユビキチン鎖に対するプロテクターによりユビキチン鎖がトリプシン消化から保護される.

ソームによる基質分解に必要であることが試験管内再構築により示されて以来¹³⁾, これがプロテアソーム分解シグナルであることが定説となっている. しかし, 最近の研究では, 無細胞系や網状赤血球を用いた試験管内の実験により, 小さいタンパク質 (150 アミノ酸以下) のタンパク質はモノ (またはマルチプルモノ) ユビキチン化で十分プロテアソームにより分解されることが報告されている¹⁴⁾. さらに, マルチプルな短いユビキチン鎖がプロテアソームの分解シグナルになりうることも報告されており, プロテアソームによる分解シグナルにはリンケージタイプより, ユビキチンの局所的濃度が重要であるとも考えられている^{15, 16)}. さらに, 試験管内ではK63鎖やK11/K48分岐鎖でもプロテアソーム分解が誘導される^{4, 17)}. ただし, これらの研究はすべて試験管内の実験であり, ユビキチン鎖長を議論するには限界があるため, 細胞内でプロテアソーム基質がどのような修飾を受けているのか調べる必要がある.

2) 細胞内のユビキチン化基質に付加されるユビキチン鎖の種類と長さ

まず我々は, 出芽酵母におけるユビキチン化基質のユビキチン鎖の長さを測定することを試みた. 酵母可溶性画分からユビキチン化基質を濃縮し, Ub-ProT法により細胞内のユビキチン鎖の長さを検討したところ, 大部分のユビキチン化基質には約2~8 merの長さのユビキチン鎖が付加されていることが明らかとなった⁹⁾. 通常ユビキチン化基質をウェスタンブロッティングで検出するとスミアとして検出されるため, 10 merも20 merも付加されているような

長いユビキチン鎖が付加されていると思い込んでいたが, 細胞内にはそのような長いユビキチン鎖は少ないことが示唆された. 細胞内ではユビキチン化反応とp97によるアンフォールディング, プロテアソーム分解にもATPを消費するので, 長いユビキチン鎖を基質に付加するのはATPのむだ遣いであると考えられる. また, ユビキチン鎖自身も凝集しやすいという物理的な特性を持つことから¹⁸⁾ (森本の稿参照), おそらく長すぎるユビキチン鎖をつけることは細胞にとって不都合であると考えられる. 続いて, Ub-ProT法と質量分析によるユビキチン鎖の絶対定量法¹⁹⁾を組み合わせるユビキチン鎖の種類と長さの関係を検討した (図3). 主要な5種類のユビキチン鎖 (K6-, K11-, K29-, K48-およびK63鎖) について検討したところ, 大きく2種類に分別できることが明らかとなった. すなわち, 1) K6-, K29-およびK48鎖は主に長いユビキチン鎖に多く含まれ, 2) K11-およびK63鎖は主に二量体で存在することがわかった. また, プロテアソーム阻害剤によりプロテアソームの機能を低下させると, 2~8 merのK29, K48鎖の量が著しく増加した. K29鎖はユビキチン依存タンパク質分解系のモデル基質 Ubiquitin-fusion degradation (UFD) 経路に関与することが知られている²⁰⁾. 我々はこれまで, UFD基質にはK29鎖およびK48鎖が含まれる不均一なユビキチン鎖が付加されることを報告してきたが^{19, 21)}, 最近, K29鎖はK48鎖と分岐鎖を形成することも報告されている²²⁾. よって, おそらく長いK29鎖はK48鎖との混合鎖/分岐鎖であることが推察される. 一方, プロテアソーム阻害により長いK6鎖, K11鎖, K63鎖も検出された. これらの鎖

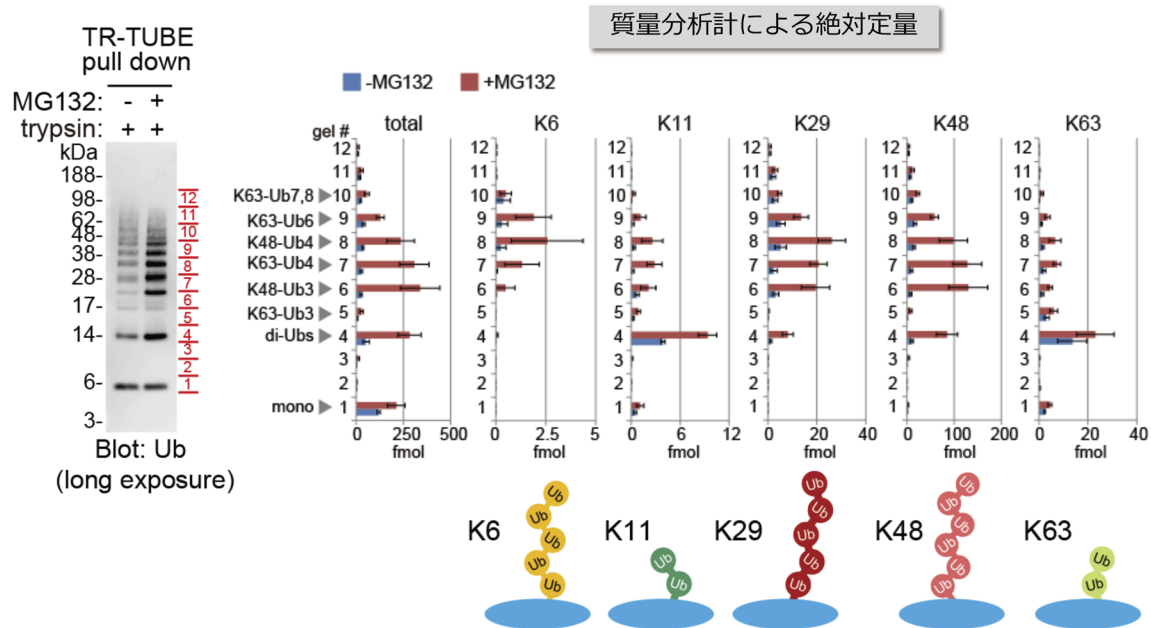


図3 出芽酵母におけるユビキチン鎖の種類と長さ
プロテアソーム阻害剤処理、未処理における酵母細胞抽出液を用いてUb-ProT法を行った後、ウェスタンブロット（左図）および質量分析計によるユビキチン鎖の絶対定量解析（右図）を行った。（Tsuchiya et al., Nat. Commun., 2018より）

が均一な鎖なのか、混合鎖／分岐鎖なのかは現時点では特定できない。哺乳類細胞においてK63鎖の多くがK48鎖との分岐を形成することも報告されており³⁾、これらの鎖のトポロジーを決定することが今後の課題である。

4. 細胞内におけるユビキチン鎖長制御機構

興味深いことに、上記の解析で、ユビキチン鎖の最大鎖長はプロテアソーム阻害剤処理を施してもわずかに変化するだけであった。つまり、細胞内のユビキチン鎖長の制御はプロテアソーム活性によらないことが示唆された。では、細胞内のユビキチン鎖長はどのように制御されるのだろうか？ ユビキチン・プロテアソーム系に着目してみると、ユビキチン鎖の長さは1) E1, E2, E3によるユビキチン化反応、2) 脱ユビキチン化酵素による脱ユビキチン化、3) ユビキチン選択的シャペロンCdc48/p97複合体やRad23やDsk2などのシャトル分子による基質運搬過程、4) プロテアソーム上でのトリミングで制御されることが考えられる。そこで各種変異体を用いてユビキチン鎖長解析を行ったところ、Cdc48/p97温度感受性変異体において細胞内のさまざまなリンケージタイプのユビキチン鎖が伸長していることを見いだした。Cdc48/p97は小胞体関連分解（ERAD）、オートファジーなどさまざまなユビキチン依存的な経路に関与することが知られており、ユビキチン化基質を複合体やERから引き抜く活性を持つ^{23, 24)}。主要なユビキチン化酵素は基質上に連続的にユビキチン鎖を伸長するため、Cdc48によるユビキチン化基質の分離はユビキチン化反応を阻害する可能性が考えられる。Cdc48

はユビキチン結合（Ufd1, Npl4およびShp1）、脱ユビキチン化酵素Otu1、およびユビキチン伸長E4因子Ufd2など多数のユビキチン関連コファクターを持ち、基質上のユビキチン鎖はこれらによりリモデリングされると考えられている^{25, 26)}。これらの変異体を用いた解析の結果、Npl4変異体においてCdc48/p97変異体と同様に細胞内のユビキチン鎖が伸長した。つまり、Npl4によるユビキチン鎖の認識が細胞内のユビキチン化基質の鎖長制御に重要であることが明らかとなった。Npl4はUfd1とヘテロ二量体を形成し、Cdc48の主要なコファクターとしてERADや複合体基質の引き抜きを行っているが、Cdc48およびNpl4変異体でユビキチン鎖が伸長することからCdc48-Ufd1-Npl4複合体はユビキチン化基質の引き抜き活性によりユビキチン化反応と拮抗することが想定される。筆者らは以前の研究においてCdc48-Ufd1-Npl4, Rad23/Dsk2を介した経路がプロテアソーム依存的なタンパク質分解における主要経路であること、プロテアソーム分解におけるK48鎖選択性はNpl4が担っていることを報告した²⁷⁾。これらのことから、基質上に2～8 merくらいのユビキチン鎖が付加されると、Npl4がこのユビキチン鎖を認識して基質を引き抜くことによりユビキチン化反応を終結するモデルが考えられる（図4上）。一方、Cdc48/p97変異体ではユビキチン鎖の引き抜き活性が減弱しているためユビキチン化反応が終結せず、基質タンパク質のユビキチン化が亢進し細胞内のユビキチン鎖長が伸長していることが想定される。あるものは凝集して封入体を形成し、一部は複合体のままプロテアソームに運ばれプロテアソームの機能を低下させることが推察される（図4下）。ヒトCdc48/VCPの変異は、家族性筋萎縮性

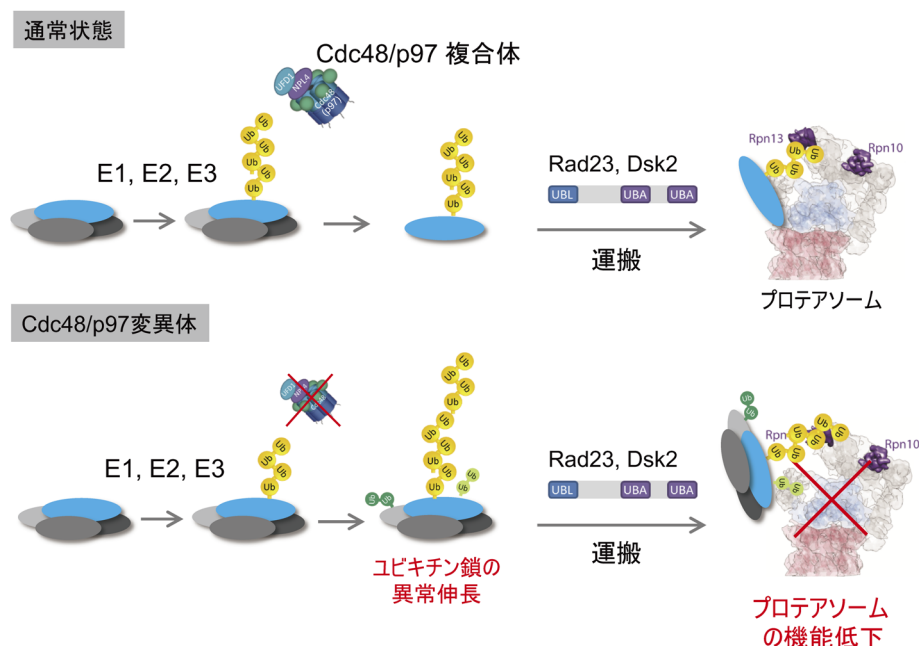


図4 細胞内におけるユビキチン鎖長制御モデル

上図：基質上に2～8 merのユビキチン鎖が付加されるとCdc48/Ufd1_Npl4複合体により認識され、ユビキチン化反応が終結する。下図：Cdc48複合体の機能が低下するとユビキチン化反応が亢進し、細胞内のユビキチン鎖長が伸長する。ユビキチン化基質の引き抜きが正常に行われず、プロテアソーム活性の低下を引き起こす可能性が考察される。

側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) や、骨パジェット病と前頭側頭型認知症を伴う遺伝子性封入体筋炎 (inclusion body myopathy with early-onset Paget disease and frontotemporal dementia : IBMPFD) などの封入体疾患の原因遺伝子であり^{28, 29)}、プロテアソームの機能の低下を引き起こすと考えられており、このような疾患でもユビキチン鎖長の伸長という現象が起こっている可能性があり今後の解析が期待される。

5. おわりに：ユビキチン修飾を詳細に理解するには

ユビキチン化はミリ秒という非常に速い速度で基質上に付加されるダイナミックな翻訳後修飾である³⁰⁾。ユビキチン結合タンパク質の多くはユビキチン単量体や二量体と相互作用するが、より長いユビキチン鎖ではアビディティーにより相互作用が増強されるため、ユビキチン結合タンパク質によるユビキチン修飾の識別にはユビキチン鎖長が重要であることが想定される。また、脱ユビキチン化酵素 MINDY1 は5 mer以上の長さのK48鎖を認識し切断する活性を持ち、長さを識別する脱ユビキチン化酵素の存在も明らかとなった³¹⁾。これらのことからユビキチン鎖の「長さ」の機能的な重要性が注目されつつある。細胞内のユビキチン鎖長解析はまさに始まったばかりであり、すべてのユビキチン修飾の長さや高次構造などの情報を得るためには新規手法開発が必須である。ユビキチン化基質のつなぎ目を選択的に認識する人工酵素の開発や、すべての構造のあるいは特定の構造のユビキチン鎖を保護できるような

プローブが開発されることにより将来的に内在性基質からユビキチン修飾の高次構造を正確に解析することが可能になり、ユビキチンコードの全容が解明されることを期待したい。

謝辞

本研究は筆者は東京都医学総合研究所蛋白質代謝研究室で田中啓二博士（同研究所理事長）のご指導をいただき進めてきたものです。深く感謝いたします。本研究は同研究所において大竹史明博士をはじめ研究室すべての方、そして非常に有益な共同研究を行っていただいた東京工業大学科学技術創成研究員細胞制御工学センター駒田研究室の駒田雅之博士（同研究室教授）、Daochrad Burana博士からのサポートによりなされたことであり、ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Komander, D. & Rape, M. (2012) The ubiquitin code. *Annu. Rev. Biochem.*, **81**, 203–229.
- 2) Ordureau, A., Munch, C., & Harper, J.W. (2015) Quantifying ubiquitin signaling. *Mol. Cell*, **58**, 660–676.
- 3) Ohtake, F., Saeki, Y., Ishido, S., Kanno, J., & Tanaka, K. (2016) The K48-K63 branched ubiquitin chain regulates NF-kappaB signaling. *Mol. Cell*, **64**, 251–266.
- 4) Meyer, H.J. & Rape, M. (2014) Enhanced protein degradation by branched ubiquitin chains. *Cell*, **157**, 910–921.
- 5) Kim, W., Bennett, E.J., Huttlin, E.L., Guo, A., Li, J., Possemato, A., Sowa, M.E., Rad, R., Rush, J., Comb, M.J., et al. (2011) Systematic and quantitative assessment of the ubiquitin-modified

- proteome. *Mol. Cell*, **44**, 325–340.
- 6) Kaiser, S.E., Riley, B.E., Shaler, T.A., Trevino, R.S., Becker, C.H., Schulman, H., & Kopito, R.R. (2011) Protein standard absolute quantification (PSAQ) method for the measurement of cellular ubiquitin pools. *Nat. Methods*, **8**, 691–696.
 - 7) Worden, E.J., Padovani, C., & Martin, A. (2014) Structure of the Rpn11-Rpn8 dimer reveals mechanisms of substrate deubiquitination during proteasomal degradation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **21**, 220–227.
 - 8) Ohtake, F., Tsuchiya, H., Tanaka, K., & Saeki, Y. (2019) Methods to measure ubiquitin chain length and linkage. *Methods Enzymol.*, **618**, 105–133.
 - 9) Tsuchiya, H., Burana, D., Ohtake, F., Arai, N., Kaiho, A., Komada, M., Tanaka, K., & Saeki, Y. (2018) Ub-ProT reveals global length and composition of protein ubiquitylation in cells. *Nat. Commun.*, **9**, 524.
 - 10) Xu, P. & Peng, J. (2008) Characterization of polyubiquitin chain structure by middle-down mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **80**, 3438–3444.
 - 11) Hjerpe, R., Aillet, F., Lopitz-Otsoa, F., Lang, V., England, P., & Rodriguez, M.S. (2009) Efficient protection and isolation of ubiquitylated proteins using tandem ubiquitin-binding entities. *EMBO Rep.*, **10**, 1250–1258.
 - 12) Yoshida, Y., Saeki, Y., Murakami, A., Kawawaki, J., Tsuchiya, H., Yoshihara, H., Shindo, M., & Tanaka, K. (2015) A comprehensive method for detecting ubiquitinated substrates using TR-TUBE. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 4630–4635.
 - 13) Thrower, J.S., Hoffman, L., Rechsteiner, M., & Pickart, C.M. (2000) Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal. *EMBO J.*, **19**, 94–102.
 - 14) Shabek, N., Herman-Bachinsky, Y., Buchsbaum, S., Lewinson, O., Haj-Yahya, M., Hejjaoui, M., Lashuel, H.A., Sommer, T., Brik, A., & Ciechanover, A. (2012) The size of the proteasomal substrate determines whether its degradation will be mediated by mono- or polyubiquitylation. *Mol. Cell*, **48**, 87–97.
 - 15) Lu, Y., Lee, B.H., King, R.W., Finley, D., & Kirschner, M.W. (2015) Substrate degradation by the proteasome: a single-molecule kinetic analysis. *Science*, **348**, 1250834.
 - 16) Lu, Y., Wang, W., & Kirschner, M.W. (2015) Specificity of the anaphase-promoting complex: a single-molecule study. *Science*, **348**, 1248737.
 - 17) Saeki, Y., Kudo, T., Sone, T., Kikuchi, Y., Yokosawa, H., Toh-e, A., & Tanaka, K. (2009) Lysine 63-linked polyubiquitin chain may serve as a targeting signal for the 26S proteasome. *EMBO J.*, **28**, 359–371.
 - 18) Morimoto, D., Walinda, E., Fukada, H., Sou, Y.S., Kageyama, S., Hoshino, M., Fujii, T., Tsuchiya, H., Saeki, Y., Arita, K., et al. (2015) The unexpected role of polyubiquitin chains in the formation of fibrillar aggregates. *Nat. Commun.*, **6**, 6116.
 - 19) Tsuchiya, H., Tanaka, K., & Saeki, Y. (2013) The parallel reaction monitoring method contributes to a highly sensitive polyubiquitin chain quantification. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **436**, 223–229.
 - 20) Johnson, E.S., Ma, P.C., Ota, I.M., & Varshavsky, A. (1995) A proteolytic pathway that recognizes ubiquitin as a degradation signal. *J. Biol. Chem.*, **270**, 17442–17456.
 - 21) Saeki, Y., Tayama, Y., Toh-e, A., & Yokosawa, H. (2004) Definitive evidence for Ufd2-catalyzed elongation of the ubiquitin chain through Lys48 linkage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 840–845.
 - 22) Liu, C., Liu, W., Ye, Y., & Li, W. (2017) Ufd2p synthesizes branched ubiquitin chains to promote the degradation of substrates modified with atypical chains. *Nat. Commun.*, **8**, 14274.
 - 23) Xia, D., Tang, W.K., & Ye, Y. (2016) Structure and function of the AAA+ ATPase p97/Cdc48p. *Gene*, **583**, 64–77.
 - 24) Meyer, H., Bug, M., & Bremer, S. (2012) Emerging functions of the VCP/p97 AAA-ATPase in the ubiquitin system. *Nat. Cell Biol.*, **14**, 117–123.
 - 25) Rumpf, S. & Jentsch, S. (2006) Functional division of substrate processing cofactors of the ubiquitin-selective Cdc48 chaperone. *Mol. Cell*, **21**, 261–269.
 - 26) Koegl, M., Hoppe, T., Schlenker, S., Ulrich, H.D., Mayer, T.U., & Jentsch, S. (1999) A novel ubiquitination factor, E4, is involved in multiubiquitin chain assembly. *Cell*, **96**, 635–644.
 - 27) Tsuchiya, H., Ohtake, F., Arai, N., Kaiho, A., Yasuda, S., Tanaka, K., & Saeki, Y. (2017) In vivo ubiquitin linkage-type analysis reveals that the Cdc48-Rad23/Dsk2 axis contributes to K48-linked chain specificity of the proteasome. *Mol. Cell*, **66**, 488–502.e487.
 - 28) Watts, G.D., Wymer, J., Kovach, M.J., Mehta, S.G., Mumm, S., Darvish, D., Pestronk, A., Whyte, M.P., & Kimonis, V.E. (2004) Inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia is caused by mutant valosin-containing protein. *Nat. Genet.*, **36**, 377–381.
 - 29) Johnson, J.O., Mandrioli, J., Benatar, M., Abramzon, Y., Van Deerlin, V.M., Trojanowski, J.Q., Gibbs, J.R., Brunetti, M., Gronka, S., Wu, J., et al., ITALSGEN Consortium? (2010) Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron*, **68**, 857–864.
 - 30) Pierce, N.W., Kleiger, G., Shan, S.O., & Deshaies, R.J. (2009) Detection of sequential polyubiquitylation on a millisecond timescale. *Nature*, **462**, 615–619.
 - 31) Abdul Rehman, S.A., Kristariyanto, Y.A., Choi, S.Y., Nkosi, P.J., Weidlich, S., Labib, K., Hofmann, K., & Kulathu, Y. (2016) MINDY-1 is a member of an evolutionarily conserved and structurally distinct new family of deubiquitinating enzymes. *Mol. Cell*, **63**, 146–155.

著者寸描

●土屋 光 (つちや ひかる)



東京都医学総合研究所主任研究員。博士(農学)。

■略歴 2010年東京農業大学応用生物科学部学部卒業。12年東京大学大学院農学生命科学研究科修士課程修了。15年同大学院農学生命科学研究科博士課程修了。同年東京都医学総合研究所研究員。19年より現職。

■研究テーマと抱負 ユビキチン・プロテアソーム系の作動原理の解明

何か一つでも面白いことがわかるような研究をしていきたいとおもいます。

■ウェブサイト <http://www.igakuken.or.jp/pro-meta/>

■趣味 スポーツ観戦、子供と遊ぶ。