



Title	HSC70 coordinates COP9 signalosome and SCF ubiquitin ligase activity to enable a prompt stress response
Author(s)	西村, 俊亮
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101785
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	西村 俊亮
論文題名 Title	HSC70 coordinates COP9 signalosome and SCF ubiquitin ligase activity to enable a prompt stress response (HSC70はCOP9シグナロソームとSCFユビキチンリガーゼを協調して制御し、迅速なストレス応答を可能にする)
論文内容の要旨	
<p>〔目 的(Objective)〕</p> <p>SCFユビキチンリガーゼは、Cullin-RING E3リガーゼファミリーに含まれ、多様な基質を分解し、細胞周期やアポトーシスなどの細胞プロセスを制御する。NEDD8の結合（NEDD8化）によって活性化し、COP9シグナロソーム複合体(CSN)によるNEDD8の脱結合（脱NEDD8化）で不活化されることが知られているが、細胞内での両者の協調制御機構は解明されていない。今回分子シャペロンであるHSC70の結合タンパク質の網羅解析にてCSNが同定されたことをきっかけに、HSC70がCSNとSCFを協調して制御しているという仮説を立て実験を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>まず、非ストレス下でHSC70抗体を用いた共免疫沈降を行い、マウス心臓組織や培養細胞にて内因性HSC70と結合する新規タンパク質として、CSNを同定した。それぞれのタンパク質を精製し、結合実験をin vitroで行ったところ、HSC70はCSNと直接結合し、その脱NEDD8化活性をHSC70のATPase活性非依存的に増強することが明らかとなった。</p> <p>次に、SCF活性化ストレス下で同様に共免疫沈降を行ったところ、HSC70とCSNの結合は減弱する一方、HSC70は活性化SCF（NEDD8化SCF）と結合することが明らかとなった。こちらについてもタンパク質を精製し、in vitroで結合実験と機能解析を行ったところ、HSC70はNEDD8化SCFと直接結合し、ATPase活性依存的にユビキチン化活性を増強することが明らかとなった。</p> <p>これらの相互作用がいかにして制御されているかを精製タンパク質や培養細胞を用いて検証したところ、HSC70とCSNの結合は基質結合型NEDD8化SCFによって競合的に阻害され、HSC70は代わりに基質結合型NEDD8化SCFと結合する一方で、基質非結合型NEDD8-SCFはHSC70とCSNの結合を阻害しないことが明らかになった。この結果から、基質結合型NEDD8-SCFが豊富な状況（SCF活性化ストレス下）ではHSC70は基質結合型NEDD8化SCFと優位に結合し、そのユビキチン化活性を増強する一方で、基質が少ない非ストレス下ではHSC70はCSNと優位に結合し、脱NEDD8化活性を増強することでSCFを不活化状態で維持していることが示唆された。</p> <p>最後に細胞実験にて機能解析を行い、HSC70によるCSNとSCFの制御機構の役割を検証した。HSC70の阻害薬・ノックダウンによってSCF基質の分解が遅延することを明らかにし、SCF活性化ストレスであるUV照射に対してHSC70ノックダウン細胞が脆弱であることを示した。これらの結果から、HSC70によるCSNおよびSCFの協調制御機構がストレス応答において重要な役割を担うことが示唆された。</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>HSC70はCSNの脱NEDD8化とSCF基質のユビキチン化を協調的に制御し、迅速なストレス応答を可能にする。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 西村 俊亮				
論文審査担当者		(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	坂田 泰史	坂田 泰史 署名
	副 査	大阪大学教授	妻木 範行	妻木 範行 署名
	副 査	大阪大学教授	武田 理宏	武田 理宏 署名
論文審査の結果の要旨				
<p>SCFユビキチンリガーゼは細胞周期関連タンパク質の分解を担い、その活性はNEDD8というユビキチン様タンパク質の付加（活性化）とCOP9シグナロソーム (CSN) による除去（不活化）によって制御される。しかし、この制御が細胞内でどのように調整されているかは不明だった。本研究は、主要分子シャペロンであるHSC70の新規結合タンパク質としてSCFとCSNを同定し、HSC70がこのプロセスの調整に関わっていることを明らかにした。具体的に、HSC70はストレスがない状態ではCSNと結合し、SCFの不活化を促進するが、ストレスがかかると結合タンパク質をCSNから活性化SCFに切り替え、タンパク質分解を活性化することが分かった。細胞実験でもHSC70がSCFの活性調節に関与し、この協調的制御機構がストレス応答に重要であることが示された。この研究は、SCFの新たな制御機構を明らかにした点で高く評価され、学位に値するものと認める。</p>				