

氏 名 AHMED MOHSEN AMIN ROHAIM

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1380 号

学位授与の日付 平成 22 年 9 月 30 日

学位授与の要件 高エネルギー加速器科学研究科 物質構造科学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 STRUCTURAL STUDIES OF UBIQUITIN-BINDING
ZINC FINGER DOMAINS IN THE NUCLEAR FACTOR
KAPPA B PATHWAY

論文審査委員 主 査 准教授 加藤 龍一
教授 若槻 壮市
教授 小林 克己
准教授 五十嵐 教之
准教授 足立 伸一
教授 加藤 晃一

論文内容の要旨

Nuclear factor kappa B (NF- κ B) is a key mediator of innate and adaptive immune response. Incorrect regulation of NF- κ B pathway has been linked to immune and inflammatory disease as well as cancers. Tax1-binding protein 1 (TAX1BP1) is a negative regulator of TNF- α - and IL-1 β -induced NF- κ B activation. TAX1BP1 comprises two C-terminal Zinc finger domains that bind to mono- and polyubiquitin, which are needed for TRAF6 (TNF-associated factor-6) or RIP1 (receptor interacting protein-1) association followed by recruitment of A20 deubiquitinase (DUB) resulting in NF- κ B inhibition. TAX1BP1 acts an adaptor protein facilitating the process of de-ubiquitination of target protein resulting in the downregulation of the NF- κ B pathway.

In order to acquire a better understanding of the molecular interaction between the ubiquitin zinc finger binding (UBZ) domain and ubiquitin, interaction between TAX1BP1 UBZ domain and mono-ubiquitin and different polyubiquitin chains were investigated in this study. TAX1BP1 UBZ domain showed remarkable difference in terms of binding affinities to mono-ubiquitin and polyubiquitin chains, as data reveals that there is a significant higher binding affinity to polyubiquitin (linear, K63- and K48-linked di-ubiquitin) chains over mono-ubiquitin.

The crystal structure of the C-terminal UBZ domains of TAX1BP1 in fusion with Green fluorescence protein (GFP) was determined, as well as the structure of linear diubiquitin chain. The crystal structure of the UBZ domain shows two tandem zinc fingers of the classical type C2H2 owing to the zinc coordinating atoms, both having a β - β - α fold. Other members of the same C2H2 UBZ family are proposed to bind ubiquitin exclusively through the α -helix in a manner similar to the inverted ubiquitin-interacting motif (IUIM). Superposition of the α -helix of the UBZ domain of TAX1BP1 to existing structural models indicates similar conformation of the ubiquitin binding surface, and a model of monoubiquitin UBZ domain complex is proposed indicating the mode of interaction between ubiquitin and UBZ domain of TAX1BP1.

Ubiquitin can be assembled in chains to add an extra level of complexity in signaling. Linear ubiquitin chain is a recent type of polyubiquitin assembly, where ubiquitin moieties are threaded head to tail, and not like the classical lysine linked polyubiquitin chains. The crystal structure of linear diubiquitin gives a closer understanding of the possible mechanism of interactions and reveals that it can acquire more than one conformation in solution to meet the surface and chemical complementarities of the recognition domain.

博士論文の審査結果の要旨

ユビキチンタンパク質は、タンパク質の分解、DNA修復系の制御、NF- κ B系の制御など様々な細胞内応答に関わる重要なタンパク質である。そしてその制御は、ユビキチンがどのような形で重合しているか、あるいはしていないか、ということと密接に関わっている事が最近明らかにされつつある。本論文では、リニア結合したユビキチン2量体の立体構造を放射光X線結晶構造解析の手法を用いて明らかにした。得られた構造は、今までに報告されていた構造とは単量体の配置が異なり、リニア結合ユビキチンが様々な空間配座を取ることを明らかにした。そしてこの違いが細胞内でユビキチンに関わる複数の経路の区別に役立っている可能性を指し示した。

リニア結合したユビキチンが制御に関わっているNF- κ B系は、細胞の免疫応答などに関わる重要な細胞内シグナル伝達過程の1つである。その経路は、TAX1BP1タンパク質がユビキチンと結合することによって抑制されている。本論文では、この経路の制御の分子機構を明らかにするため、TAX1BP1のユビキチン結合領域の立体構造を明らかにすると共に、溶液中でのユビキチンとの結合様式について詳細に調べた。TAX1BP1のユビキチン結合領域はGFPとの融合タンパク質を作成するという工夫により結晶を得ることに成功し、そのX線結晶構造を明らかにした。他のユビキチン結合ドメインとの比較を行い、TAX1BP1のタンデムに並んだユビキチン結合領域のユビキチンとの結合様式は、今までに知られていない新しいものである可能性をはじめて示した。また、立体構造に基づいて作成した変異タンパク質とユビキチンの溶液中での結合を詳細に調べ、その新しい結合モデルを支持する結果を得た。

本論文では、上に述べた科学的意義、実験方法、実験結果、それに基づく議論と考察が要領よくまとめられており、また、発表および質疑応答においても、それらの内容および関連領域に関する質問に対する的確に回答し、十分な知識と理解があることを示した。以上のことから判断して、本論文の結果は科学的に重要であり、学位論文としてふさわしいものとして審査委員会全員一致で合格と判定した。