

## 光誘起型伸長反応を用いたポリユビキチンの鎖長制御手法の確立

(東大院工<sup>1</sup>・東大先端研<sup>2</sup>) ○村山 伊織<sup>1</sup>・古畑 隆史<sup>1</sup>・岡本 晃充<sup>1,2</sup>

Synthesis of Length-Defined Polyubiquitin Chains Using Light-Induced Ubiquitin Elongation (<sup>1</sup>*Graduate School of Engineering, The University of Tokyo*, <sup>2</sup>*Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo*) ○Iori Murayama,<sup>1</sup> Takafumi Furuhashi,<sup>1</sup> Akimitsu Okamoto<sup>1,2</sup>

Polyubiquitination is one of the major post-translational modifications of proteins involved in the regulation of various cellular processes, such as protein degradation, DNA repair, and signal transduction. The diverse functions of polyubiquitin are considered to be precisely regulated by their topology characterized by their chain length and linkage types. However, the structure-function relationships of polyubiquitin chains remains to be elucidated due to the lack of the methodology that enables efficient synthesis of length and linkage-defined polyubiquitin chains toward intensive analysis of their functions. In this study, we represent a novel chemoenzymatic method for the synthesis of polyubiquitin chains with defined chain length and linkage types. To this aim, we designed a ubiquitin unit whose specific lysine residue is protected by a photolabile group. The protected ubiquitin allowed stepwise elongation of polyubiquitin chains *via* repetitive cycles of photoirradiation and enzymatic ubiquitin ligation. In this presentation, we will discuss the detailed design strategy of protected ubiquitin and the feasibility of length-defined synthesis of polyubiquitin using this methodology.

**Keywords :** Polyubiquitin; Length-Defined Synthesis; Chemoenzymatic Synthesis

ポリユビキチン化は、タンパク質の分解や DNA 修復、シグナル伝達といった様々な細胞機能の制御に関与する主要なタンパク質翻訳後修飾の一つである。その多彩な機能は、ユビキチンに含まれる 7 つのリシン残基と N 末端における計 8 個のアミノ基を介した多量体構造の鎖長や結合位置によって精密に制御されていると考えられている<sup>1)</sup>。しかし、ポリユビキチン鎖の構造-機能相関の全貌は未だ明らかとなっていない。これは、ポリユビキチン鎖の構造-機能相関の精査に向けて、構造を厳密に規定したポリユビキチン鎖を効率的に合成・取得する手法が欠けていたからである。以上から、本研究では、鎖長と結合様式を精密に制御したポリユビキチン鎖の伸長手法の確立を目指した。

本目的に向けて、まず、特定のリシン残基の側鎖に光分解性保護基を導入したユビキチンの設計・合成を行った。また、酵素による伸長反応と光照射による脱保護を繰り返すことにより、特定のリシン残基を介した段階的なポリユビキチン鎖の伸長を試みた。本発表では、具体的なユビキチンの設計戦略と、本手法によるポリユビキチン鎖の鎖長制御の可能性について議論する予定である。

1) D. Komander, M. Rape, *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, *81*, 203-229.