

氏 名	ち ば し のぶ 千 葉 志 信
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2482 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理学研究科化学専攻
学位論文題目	Requirements for the initiation of membrane protein degradation by <i>Escherichia coli</i> FtsH (大腸菌 FtsH による膜蛋白質分解開始の機構)
論文調査委員	(主 査) 教授 三木邦夫 教授 伊藤維昭 助教授 秋山芳展

論 文 内 容 の 要 旨

FtsH は、AAA ATPase ドメインをもつ亜鉛メタロ・プロテアーゼであり、大腸菌に存在する ATP 依存性プロテアーゼの中で、唯一細胞質膜に局在し、膜蛋白質分解を司ることが知られている。そのプロテアーゼおよび ATPase 活性中心は細胞質側に存在するが、分解は膜蛋白質基質の全域に及ぶ。細胞質側に引きずり出す (dislocation) ことで基質分子全体に対する加水分解を行っているものと考えられる。申請者は、このような processive な膜タンパク質分解がどのような分子認識のもとに開始されるのかと言う問題を取り上げた。基質膜タンパク質の分解が N 末端から開始される場合があることが示唆されていたが、膜蛋白質基質 YccA の N 末端細胞質領域を改変することによってそのことを確認した。さらに、この領域の配列と長さを様々に変化させ、それらの変異膜タンパク質の FtsH 感受性を検討した結果、N 末端細胞質領域の長さが 20 残基以上であることが FtsH による分解を受けるために必要であることを見いだした。一方、アミノ酸配列自体には特異性が認められず、多様な 20 残基以上の配列が FtsH による分解開始を促すことができることが示唆された。本来基質ではない膜蛋白質も、N 末端細胞質領域を 20 アミノ酸残基以上の長さにするだけで、FtsH によって分解を受けるようになった。これらの観察から、FtsH は 20 アミノ酸以上の長さの細胞質領域が N 末端に存在するとき、その膜タンパク質の dislocation を伴う分解を開始することができるかと結論づけた。

次に、FtsH による膜蛋白質分解が、N 末端から C 末端方向のみに進行するのか、C 末端から N 末端方向へも進行する「双方向性」のものであるのかを、C 末端のみ細胞質側に露出したモデル基質を構築することによって調べた。その結果、FtsH による膜蛋白質分解は、C 末端側からも開始され得ることを明らかにした。ペリプラズム側領域に融合させたレポータードメイン (アルカリホスファターゼ) のフォールディング状態と分解との関係を解析することにより、C 末端から開始される分解に於いても、基質の dislocation を伴うプロセッシブな分解が起こっていることを示し、また、C 末端細胞質領域の長さが C 末端側からの分解開始にも重要であることを示した。さらに、N 末端、C 末端とも細胞質側に十分な長さが露出されている場合には、両端から分解が開始され得ることも発見した。FtsH は、基質によっては複数の箇所から分解を開始することにより、異常膜蛋白質の分解・除去を効率よく行っているものと思われる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、タンパク質分解反応の細胞機能の制御における重要性が明らかになりつつある。このような反応は膜タンパク質に対しても行われており、膜の恒常性維持に重要な役割をもつものと考えられる。しかしながら、膜タンパク質がどのような分解制御を受けているのか、その酵素反応がどのような分子メカニズムで行われるのかについては不明の点が多い。本研究において申請者は、大腸菌の FtsH プロテアーゼが膜タンパク質を分解するときの基質認識と反応開始の機構を細胞レベルの実験によって研究した。疎水的な脂質二重層に埋もれた基質タンパク質に対して加水分解反応を効率よく行うためには、特別の分子機構が必要であると思われるが、FtsH は、その ATPase 活性を利用して基質タンパク質を膜から細胞質側に輸

送することによって、プロテアーゼ活性中心に提示し、分子全体を効率よく分解するものと考えられる。このようなプロセスに進行する反応においては、その開始のプロセスが重要である。申請者は、分解開始における、基質認識の問題に取り組んだ。そして、FtsHは基質タンパク質のN末端に、特定の配列というよりは20アミノ酸残基以上の長さの細胞質領域が存在すると分解を開始することを見いだした。このようなN末端細胞質領域は、FtsHによるdislocationを可能とする分子間相互作用のため必要とされるものと思われる。この知見は、ATP依存プロテアーゼによるタンパク質分解反応に新しい概念をもたらしたものとして評価できる。今後、FtsHの分子動態や、酵素・基質相互作用を研究する上の、重要な指針を与えるものであり、膜タンパク質の分解という新しい研究分野の先駆的な発見であると言える。

プロセッシブなタンパク質分解反応における、方向性は重要な問題である。申請者は、FtsHによる膜蛋白質分解が、N末端からC末端方向のみならず、C末端からN末端方向へも進行しうることを見いだした。また、いずれの場合にも、基質タンパク質は細胞質側へ輸送されることを示唆する結果を得た。このような申請者の結果は、ペプチド結合の加水分解、タンパク質の動きという2つの素過程において、FtsHがどのように方向性の問題を解決しているのかという、問題点を明確に提起することとなった。この問題の理解には、申請者の行った細胞レベルでの解析では不十分であり、試験管内での反応の再構成と解析が必須である。しかし、この方向への研究にも一定の道筋をつけたものと評価できる。最後に、FtsHが、基質タンパク質の複数の、かつ多様な配列からなる細胞質露出部位から同時に分解を開始する能力を持つことを示したことは、異常膜蛋白質の迅速な除去というFtsHの生物学的役割に対する分子レベルでの考察を可能にしたものである。

以上、申請者の研究は、膜蛋白質分解機構という新しい研究分野で、いくつかの先駆的な知見をもたらしたものである。よって、博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、主論文に報告されている研究業績を中心として、これに関連した研究分野について諮問した結果、合格と判定した。