

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	服部 徳哉
論文題目	SEL1Lの分解中間体はポリグルタミンタンパク質の細胞質での凝集を促進する		
(論文内容の要旨)			
<p>小胞体は、分泌タンパク質や膜タンパク質などの生合成を行い、これらのタンパク質の高次構造形成の場としての役割を担っている。そのため、小胞体の恒常性の維持は生体の生存にとって非常に重要である。小胞体関連分解 (ERAD) は、小胞体に蓄積した異常なタンパク質を分解する機構のひとつである。またERADは、タンパク質の調節的分解を介した生体反応の調節も行っている。</p> <p>ERADを担う因子SEL1Lは、小胞体膜に存在するI型膜タンパク質で、ユビキチンリガーゼであるHRD1と1:1の複合体を形成し、ERADにおいて中心的な役割を担っている。先行研究から、複合体を形成できないSEL1Lはubiquitin-proteasome系で分解されることが示された。また、proteasome阻害剤を加えてSEL1Lの分解を阻害すると、SEL1L分解中間体の蓄積が観察された。通常は、ERADでの分解過程でこのような分解中間体は検出されない。そこで今回、SEL1Lの分解メカニズム及び、SEL1Lの分解中間体が細胞に及ぼす影響を解明するため、この分解中間体の解析を行った。</p> <p>まず、N末端およびC末端にタグをつけたSEL1Lを用いた解析から、SEL1L分解中間体は、SEL1Lタンパク質が内部で切断された結果生じたものと考えられた。細胞分画を行って、SEL1L分解中間体は細胞質に蓄積することを確認した。また、SEL1Lの分解中間体は還元条件下に存在しており、脱糖鎖型であった。ERADにおける基質の引っ張り出しに関与するp97の阻害剤を加えると分解は抑制された。これらの結果からSEL1L分解中間体は、全長のSEL1Lが一旦細胞質に出てきたのちに切断されることが明らかになった。次に過剰発現系やsiRNAを用いたノックダウン実験から、ERADを制御する小胞体レクチンであるOS-9やXTP3-Bは、SEL1Lと複合体を形成し、SEL1Lを安定化させることを見出した。また、SEL1LのC末端側に存在するプロリンに富んだ領域が分解中間体の形成に関与することを明らかにした。さらに、小胞体ストレスやパートナータンパク質の欠乏などによってSEL1Lは分解され、分解中間体が生成されることを見いだした。</p> <p>伸長したポリグルタミン鎖をもつタンパク質は細胞内で凝集体を形成し、ポリグルタミン病と呼ばれる神経変性疾患を引き起こすことが知られている。今回、モデルタンパク質としてHtt-polyQ76-GFPを用いて解析を行ったところ、SEL1Lの分解中間体は、Htt-polyQ76-GFPの細胞質での凝集体形成を促進することが明らかになった。また、免疫細胞染色の結果、SEL1L分解中間体は凝集体を取り囲むように局在していた。凝集体形成に重要なSEL1Lの領域を調べたところ、タンパク質間の相互作用に関わると考えられているSEL1Lリピートの重要性が示された。この領域が、凝集体を形成しやすいタンパク質と相互作用した結果凝集体形成が促進されたと考えられた。</p> <p>以上の結果から、SEL1L複合体の小胞体膜上での分解基質認識に関わる新たなサーベイルランス機構の存在が示唆され、また、小胞体と細胞質におけるタンパク質品質管理機構は密接に関連していることが示された。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

ERADは小胞体に蓄積した異常タンパク質を分解することで、小胞体タンパク質の品質管理に関与している。小胞体膜タンパク質SEL1Lは、HRD1と複合体を形成し、ERADにおいて重要な役割を担う。ところが複合体を形成できなかったSEL1L自体もERADで分解されるため、proteasome阻害剤添加により、SEL1Lの分解中間体の蓄積が観察される。本研究では、このSEL1Lの分解メカニズム及び、SEL1Lの分解中間体が細胞に及ぼす影響を調べた。

まず、SEL1Lの分解中間体は、SEL1Lが分解される過程でSEL1Lに切断が生じた結果生成されること並びにその責任領域を明らかにした。一旦小胞体膜に組み込まれたSEL1Lが細胞質に逆行輸送された後に切断される。また、この現象は小胞体ストレスによっても誘導されること、ERADに関与する小胞体レクチンであるOS-9やXTP3-Bとの結合がSEL1Lを安定化させる事を見いだした。さらに、SEL1L分解中間体は、細胞質においてポリグルタミンタンパク質の凝集体形成を促進することを明らかにした。proteasomeの機能阻害は、ガン、老化、神経変性疾患などとの関連性が報告されている。今回、proteasomeの機能を阻害した時に生じるSEL1Lの分解中間体が、凝集体を形成しやすいタンパク質と相互作用することによって細胞質における凝集体形成を促進すること、および、本現象に関与するSEL1Lタンパク質の領域を明らかにした。

SEL1Lは複数回膜貫通型タンパク質であるHRD1と複合体を形成して安定に存在するが、今回新たに小胞体内腔タンパク質であるOS-9およびXTP3-Bと結合することによっても安定化することが明らかになった。この事から、SEL1Lタンパク質が小胞体膜上をより自由に動き回ってミスフォールドしたタンパク質をサーベイするという、小胞体品質管理における新たなメカニズムを提案した。SEL1Lの発現は、小胞体ストレスを含めた生理的、病的環境下で変動し、ガン化との関連も報告されている。一方、様々な疾患や、ストレス、老化などに伴いproteasomeの機能が障害される。このようにSEL1Lタンパク質とproteasomeを介して、小胞体と細胞質におけるタンパク質品質管理機構が相互に関与するメカニズムの一端を明らかにすることができた。さらにSEL1Lタンパク質の切断や凝集体形成に関わる領域の同定を行いその分子機構を解明した。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年12月6日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日以降