

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	北村 大樹
論文題目	細胞内リボソームタンパク質レベルの恒常性制御機構の遺伝学的解析		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞内でタンパク質の合成を担うリボソームは、真核生物では約 80 種類のリボソームタンパク質 (Rp) から構成される巨大複合体である。これまでの酵母や細胞培養系での研究から、個々の Rp の細胞内レベルはネガティブフィードバック機構やユビキチン・プロテアソーム系を介してリボソームの生合成に必要な量だけ存在するように制御されていることがわかってきた。しかし、多細胞生物における細胞内 Rp レベルの制御に関する研究は <i>in vivo</i> ではほとんどなされておらず、生体内における細胞内 Rp レベルの制御の実態、またその生理的意義は不明な点が多い。本研究で申請者は、ショウジョウバエで利用可能な遺伝学的手法を用いて、生体内において細胞内 Rp レベルがどのように制御されているのかを解析した。内因性に発現する Rp を EGFP 融合タンパク質として検出できるノックインショウジョウバエを用いて、その組織中で Ribosomal protein S20 (RpS20) または Ribosomal protein L5 (RpL5) を異所的に強制発現させると、それぞれ内因性の EGFP-RpS20 または EGFP-RpL5 の細胞内タンパク質レベルが大きく減少することを見出した。一方で、ハウスキーピング遺伝子である Heat shock protein 83 (Hsp83) の内因性タンパク質レベルを EGFP 融合タンパク質として検出できる系において Hsp83 を異所的に強制発現させても EGFP-Hsp83 の細胞内タンパク質レベルは変化しなかったことから、細胞内の Rp レベルは特異的な制御を受けている可能性が示唆された。この細胞内 Rp レベルの恒常性制御は、mRNA レベルではなくタンパク質レベルで起こることがわかった。さらなる解析により、細胞内の Rp レベルが高まった際、リボソームに組み込まれなかった余剰な Rp がプロテアソームで分解されることで、細胞内 Rp レベルの恒常性が維持されていることが明らかになった。通常は細胞内で巨大複合体を形成する Rp が単独で存在する状態である「遊離 Rp」は、タンパク質品質管理システムによって「オーファンサブユニット」として認識され、プロテアソーム系を介して細胞内から積極的に除去されると考えられる。本研究の成果により、細胞内 Rp レベルの恒常性が生体内で制御される機構が明らかになったとともに、細胞内 Rp レベルの不均衡が誘導する細胞競合の分子機構とその役割の解析に新たな視点と研究アプローチがもたらされると期待される。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、細胞内のリボソームタンパク質 (Rp) レベルがどのような機構で維持されているのかを生体レベルで明らかにすることを目的として、ショウジョウバエを用いた遺伝学および生化学的解析を行った。まず、ショウジョウバエのRpS20遺伝子あるいはRpL5遺伝子上流にEGFPをコードする遺伝子が融合するように挿入されたプロテイントラップシステムをショウジョウバエストックセンターから入手し、これらの系統において内在性に発現するRpS20あるいはRpL5タンパク質レベルをEGFPの蛍光により検出できることを確かめた。これらの系統の3齢幼虫の各組織において、RpS20-HAあるいはRpL5-HAを異所的に強制発現させると、それぞれ内因性EGFP-RpS20あるいはEGFP-RpL5の発現がほぼ完全に消失することを見出した。このような内因性タンパク質の消失は、Heat shock protein 83 (Hsp83) の内因性タンパク質を検出できるEGFP-Hsp83系統でHsp83を異所的に強制発現しても見られなかったことから、細胞内Rpレベルは特異的な機構で制御されている可能性が示唆された。さらなる解析により、この細胞内Rpレベルの恒常性維持はタンパク質レベルで制御されていること、またリボソームに組み込まれなかった余剰Rpがプロテアソームで分解されることで細胞内Rpレベルが一定に保たれていることを明らかにした。この現象は、タンパク質複合体を形成するサブユニットが単独で細胞質に存在した際、疎水性アミノ酸残基が細胞質側に暴露されることでProtein Quality Controlシステムに感知されプロテアソーム系で分解されるという近年注目されている現象であると考えられる。今後の研究により、本現象の分子機構、さらには本現象が関与する細胞競合の分子機構の理解に貢献すると期待される。

本研究において申請者は、EGFP-Rp系統の解析から細胞内Rpレベルの恒常性維持機構の解明に至るまで、ほぼすべてのプロセスを単独の力で成し遂げた。特に、ポリソームプロファイリングはこれまで当研究室で経験のなかった解析手法であり、申請者自ら当該解析を実施している研究室を見つけて技術指導を受けるなど、主体的かつ積極的に研究を進めた。細胞内Rpレベルの恒常性維持機構に関しては、大規模な遺伝学的スクリーニングを含めた膨大な解析を行ったが研究の進展は困難を極めた。そのような中、プロテアソーム系による遊離Rpの分解という現象を自ら見出し、一連の成果をストーリーとしてまとめて論文発表にまで至ったのは評価できる点であり、申請者は本研究を通じて優れた研究者になるための多くの資質を身に付けたと言える。

以上のように、本論文には生命科学に関する高度で幅広い学識、細胞生物学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見や概念が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。さらに、令和6年2月8日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日