

氏 名	なか と がわ ひとし 中 戸 川 仁
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2485 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	タンパク質膜透過駆動因子 SecA の制御機構 ——SecM による翻訳制御と分子内相互作用による ATPase 活性制御——

(主 査)
論文調査委員 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

SecA は、表層タンパク質の局在化における膜透過を駆動する ATPase である。申請者は、SecA の機能発現制御について研究を行った。SecA の発現は、タンパク質分泌に異常が生じると、翻訳段階で上昇する。この制御に *secA* と同一オペロン上流に位置する *geneX* が関与するが、申請者はこの因子を同定し、その作用機構を解明し、SecM と命名した。SecM は、N 末端にシグナル配列を持つ分泌タンパク質として合成される。申請者の研究で以下のことが明らかとなった。*secM* の翻訳伸長は終始コドンの手前で一時停止（アレスト）する。合成途上 SecM 分子の膜透過が正常に進行する場合には、アレストは速やかに解除され、SecM はペリプラズムへ輸送されて、Prc プロテアーゼにより分解除去される。一方、SecM の膜透過が起らない条件下ではアレストが持続し、SecM は peptidyl-tRNA の状態で存続する。この時、mRNA 上で停止したリボソームにより *secM*-*secA* 間に形成される mRNA の二次構造が破壊され、*secA* の翻訳開始配列が露出し、その翻訳が上昇するものと考えられる。以上により、SecM は、細胞のタンパク質分泌活性を自身の分泌状態としてモニターして自身の翻訳のアレスト状態を変化させることにより、*secA* の翻訳を制御するという新しい遺伝子発現制御機構が明らかとなった。

申請者は次いで、SecM における翻訳アレストの機構を、徹底的な変異解析によって解明した。まず、SecM の翻訳伸長停止部位が Pro166であることを突き止め、またそれを含む SecM の C 末端領域の配列、“FXXXWIXXXGIRAGP”は前後の配列とは独立に、リボソーム内部で自身の翻訳伸長を停止させる能力を持つことを発見した。すなわち、このアミノ酸配列が現れると、リボソームは Pro 以降にポリペプチド鎖を伸長できない。申請者は、この原因が翻訳途上の上記配列がリボソームの出口トンネルの構成成分と相互作用することにあると考え、アレストを起こしにくくなったリボソーム変異を分離した。この目的のため、SecM のアレスト配列の C 末端側に LacZα を融合させ、アレストの不全を検出できるレポーター遺伝子を構築して利用した。その結果、23S rRNA 及び L22リボソームタンパク質の特異的な数個の残基の変化によって、アレストが緩和されることを見出した。これらの残基は、いずれもリボソーム 50S サブユニットの立体構造上で、出口トンネルの狭窄部位の内面に集中した。これらの結果から、リボソームのこの部位が SecM のアレスト配列と相互作用すると、翻訳伸長が停止することを提唱した。これは、リボソームの出口トンネルは、どのようなアミノ酸配列を持つ翻訳産物とも相互作用しないような性質を持つとの考えを修正するものである。申請者は、リボソームの出口トンネル狭窄部位には、出口閥門として翻訳されたアミノ酸配列と相互作用して、その翻訳伸長を制御する機能があることを提唱した。SecM の分泌モニターとしての働きは、出口閥門の生物学的意義を初めて例証するものである。

申請者は SecA の活性制御に関しても研究した。SecA 単独での ATPase 活性（内在性 ATPase 活性）は、極めて低く抑制されている。内在性 ATPase 活性が異常に昂進した変異型 SecA タンパク質 D580V を生化学的に解析することにより、SecA の ATPase 活性は、高親和性 ATP 結合部位 NBS I に担われていること、低親和性 ATP 結合部位 NBS II は、NBS I の ATPase 活性を抑制する働きを持つことを見出した。この結果により、SecA の内在性 ATPase 活性は、NBS II 領域

と、C末端ドメインとによる二重の抑制を受けていることが明らかとなった。この抑制は、膜内在性 SecYEG 因子との相互作用によって解除され、ATP を効率よくタンパク質輸送に利用することが可能になっているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者は、タンパク質膜透過駆動因子である SecA ATPase の制御機構に関して、2つの異なるレベルの解析を行った。そのうち、SecA の ATPase 活性制御に関する分子内制御機構の発見は、従来知られていた機構に加えて、新たな独立の機構が存在することを示したものであり、この分野における重要な貢献として評価できる。

一方、SecA の翻訳制御に関わる分泌モニター分子 SecM の研究結果は、(1)全く新たな遺伝子発現制御機構の存在を明らかにしたこと、(2)リボソームの出口トンネルの機能を初めて明らかにしたこと、(3)そしてタンパク質におけるアミノ酸配列が無制限に許されるものではないことを提起したこと、と言った新たな画期的な発見を含むものである。

細胞のタンパク質分泌活性に応じた SecA の翻訳調節機構は、長年米国の研究者が取り組んできたものの、その本質は解明されることなく残されていた。申請者は、SecM タンパク質の性状を初めて記載し、それが分泌モニター機能を合成途上に発揮するが、合成が完了した後はペリプラズムで直ちに分解されてしまう特異な性質を持つものであることを解明した。SecM が自ら翻訳伸長アレストを起こすこと、自身の合成途上における膜透過装置との相互作用の有無によってアレスト状態が制御されること、このことによって同一 mRNA 上に存在する *secA* の翻訳レベルでの発現制御を行うこと、これらいずれも、新たな概念を含む新発見である。

さらに申請者は、SecM のアミノ酸配列内に、(膜透過装置によって「引っ張られて」いない限り)リボソーム内部でそれ以上伸長ができない配列が存在することを突き止めた。このような配列の記載は前例がないものであり、mRNA 上の遺伝情報はそのコドン配列にしたがって、どのような配列のタンパク質の合成も指令できるとの、ゲノムに関する常識的な理解を覆すものである。それ自体 RNA とタンパク質とで構成されているリボソームは、翻訳産物の内 SecM アレスト配列のような特定のものととは、その内部の出口トンネル内で相互作用をする場合があるとの発見は、タンパク質合成機構の分野に新たな問題点を提出することとなった。さらに、本研究に於いては、このような翻訳機構における新たな現象が、SecM による分泌モニターの機構として巧みに利用されていることが示されている。翻訳途上のタンパク質分子の他の因子との相互作用がリボソーム内部でのそのタンパク質の合成速度を制御するとの概念は、新たに合成されたタンパク質の構造形成、複合体形成、局在化と輸送などの研究分野におおきなインパクトを与えることになると思われる。

以上のように、本研究はいくつもの顕著な発見と新たな概念の提唱を含む卓越したものであると評価できる。本研究は、タンパク質膜透過およびリボソームによる遺伝情報の翻訳の理解へ大きく貢献するものである。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。