

(論文内容の要旨)

小胞体の品質管理機構の代表的な一つとして小胞体関連分解 (ERAD、Endoplasmic Reticulum Associated Degradation) が存在する。ERAD は異常タンパク質を選択的に小胞体からサイトゾルへ逆行輸送し、ユビキチン・プロテアソーム系で分解させる一連の機構である。糖タンパク質の ERAD において EDEM は分解すべき異常タンパク質を糖鎖構造によって認識するレクチンタンパク質として発見された。しかし、EDEM を介した分解機構は不明な点が多いのが現状である。今回、EDEM と結合する小胞体タンパク質を新規 Yeast Two-Hybrid 法 (ER MYTHS, Endoplasmic Reticulum Membrane Yeast Two-Hybrid System) を用いて検索した。本研究では ER MYTHS によって、EDEM と結合するタンパク質 ERdj5 を同定した。また *in vitro* での酸化還元活性測定で、ERdj5 が小胞体で還元活性に特化した還元酵素であることが明らかになった。本研究の目的は、小胞体で初めて同定された還元酵素 ERdj5 の還元活性がどのような生物学的意義を持っているのかを明らかにすることにある。

モデル基質として $\alpha 1$ -Antitrypsin の遺伝的バリエーション Null Hong Kong (NHK) と Immunoglobulin M の Joint 鎖 (J 鎖) を用い、ERdj5 が両基質の分解へ影響を与えるかを観察した。また両基質はともに分子間ジスルフィド結合を形成するのが特徴である。ERAD においてこの両者の分子間ジスルフィド結合は小胞体からサイトゾルへの逆行輸送において、小胞体膜上に存在する輸送チャネルを通過する際の物理的障害となっており、分解が遅延すると考えられる。ERdj5 が NHK および J 鎖の分子間ジスルフィド結合を還元活性依存的に解消し、両基質の ERAD を促進した。小胞体品質管理において ERdj5 の還元活性を利用したまったく新しい ERAD 機序が提示できたと考えている。

また本研究では、EDEM の関与しない非糖タンパク質基質も ERdj5 の還元活性依存的に ERAD が促進されることを示し、どのように ERdj5 にリクルートされるかを解明した。非糖タンパク質のモデル基質として NHK/QQQ を用いた。ERdj5 は N 末端に J ドメインを持ち、Hsp40 ファミリーに属している。ERdj5 が NHK/QQQ の分解を効率よく促進するには J ドメインを介した BiP からの基質のリクルートが重要であることが示された。このことから ERdj5 は糖タンパク質と非糖タンパク質の ERAD に関与するが、それぞれ独立した経路から ERdj5 にリクルートされることがわかった。糖タンパク質は CNX や CRT などのレクチン型分子シャペロンから EDEM によって基質認識され、ERdj5 にリクルートされる。一方、非糖タンパク質は BiP によって基質認識が成され、BiP によって ERdj5 にリクルートされる。糖タンパク質の ERAD は基質認識など今まで不明な点が多かった。今回の研究で非糖タンパク質の ERAD 機序の一側面を解明したと同時に、ERdj5 を介した小胞体関連分解の全容を明らかにしたと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

本研究は小胞体で初めて同定された還元酵素 ERdj5 が EDEM と共役して異常な糖タンパク質のジスルフィド結合を解離し、小胞体からサイトゾルへの逆行輸送を促進していることを明らかにした。小胞体はタンパク質の構造形成の場である。サイトゾルと比較して非常に酸化的な環境で、構造形成に必要なジスルフィド結合の形成には有利な環境であるといえる。このような環境でジスルフィド結合を切断するメカニズムは新しく、小胞体関連分解に生物学的意義を見出したことは重要である。小胞体からサイトゾルへの逆行輸送は逆行輸送チャネルを介して排出される。逆行輸送チャネルの大きさから考えて、ジスルフィド結合の解離は必要であるとされてきたが、今までその分子機序は不明であった。本研究は今まで不明であった小胞体からサイトゾルの排出メカニズムの一側面を解明したことになるだろう。

また、EDEM が関与しない非糖タンパク質の小胞体関連分解にも ERdj5 が還元活性依存的に関与することも見出した。非糖タンパク質の場合、小胞体での基質認識機構および基質の分解系へのリクルートは不明であったが、ERdj5 への基質のリクルートは Jドメインを介し、BiP が担っていることが証明された。ERdj5 を介した小胞体関連分解は糖鎖の有無に関わらないが、糖タンパク質は EDEM から、非糖タンパク質は BiP から基質が ERdj5 に受け渡され、2つの経路で ERdj5 が関与していることを新しく見出した。

本研究では、今まで同定されてこなかった小胞体における還元酵素 ERdj5 の同定と異常タンパク質のジスルフィド結合切断が小胞体からサイトゾルへの逆行輸送を効率化しているという新しい分解機序を解明した。また、今まで詳細が不明であった非糖タンパク質の小胞体関連分解を ERdj5 に焦点をあて、基質認識機構など分子機序を解明することが出来た。これらのことは小胞体関連分解の詳細なメカニズム解明に大きく貢献したといえるだろう。

よって、本論分は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、申請論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関与する分野について試問を行った結果、合格と認めた。