

氏 名	なが 長 澤 孝 治
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3189 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 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 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	小胞体関連分解機構における小胞体膜タンパク質複合体TRAPの機能解析
論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 和 宏 教 授 藤 吉 好 則 教 授 七 田 芳 則

論 文 内 容 の 要 旨

本論文において申請者は、真核生物における小胞体ストレス応答機構の詳細なメカニズムを解明すべく、小胞体ストレスによって発現誘導を受ける遺伝子を検索、解析するというアプローチで研究を行い、小胞体ストレスによって発現誘導を受ける新規・機能未知遺伝子を多数単離した。その結果をもとに、小胞体膜上に存在するタンパク質透過チャネルである Sec61 translocon に付随している小胞体膜タンパク質複合体であり、今まで詳細な機能が不明であった TRAP (translocon associated protein) 複合体に着目し、その機能解析の結果、TRAP 複合体が、小胞体内に蓄積された不良品タンパク質を細胞質に逆輸送してユビキチン・プロテアソーム系を介して分解するという小胞体関連分解 (ERAD: ER associated degradation) 機構に関わることを明らかにした。

まず本論文の序論において、哺乳類細胞における小胞体ストレスおよびその応答機構の概説および意義、現在までに知られている ERAD のメカニズム、本研究で研究対象となっている TRAP 複合体の概説がなされ、本研究の意義が定義されている。

結果は2編で構成される。第1編では、小胞体ストレスによって発現誘導を受ける新規・機能未知遺伝子の検索過程および結果が示されている。その結果、TRAP γ を同定したことが記されており、本論文の主要部分となる第2編への橋渡しがなされている。

第2編では、前編の結果をもとに着目した TRAP γ をサブユニットの1つとする小胞体膜タンパク質複合体 TRAP の機能を、特に小胞体品質管理機構・小胞体関連分解 (ERAD) 機構との関わりに焦点を当てて解析している。その結果、以下のことを明らかにしている。

- (1) TRAP 複合体を構成する4つの遺伝子は、小胞体ストレスによって特異的に、かつ同時に発現誘導をうけ、この発現誘導は XBP1/IRE1 α 経路を介する。
- (2) TRAP 複合体のサブユニットの1つをノックダウンすると、native な TRAP 複合体の存在量が減少する。
- (3) TRAP 複合体の形成を阻害すると、ERAD によって分解をうける基質の分解が遅延する。
- (4) TRAP 複合体は逆輸送時に、変性タンパク質と特異的に相互作用する。
- (5) TRAP 複合体は ERAD に関わるタンパク質 (カルネキシン, p97, EDEM1) とおそらく一過的に相互作用する。

以上の結果をもとに、ERAD 機構において、TRAP 複合体は ERAD によって分解されるべき変性基質を認識して相互作用し、分解基質を Sec61 トランスロコンへリクルートすることによって、分解を促進する役割を持っているということを提唱している。

最後に、本論文の研究結果および過去の知見をもとに、TRAP 複合体の作用機序、逆輸送チャネルの実態、他の小胞体品質管理機構との関連について、様々な可能性を詳細に考察・議論している。

本論文は、Sec61 トランスロコンが逆輸送に関わることを強く示唆し、ERAD における逆輸送チャネルの実態に迫った意

義深い論文として位置づけられる。

論文審査の結果の要旨

小胞体ストレスは、細胞がある種のストレス条件下におかれることや、異常タンパク質の産生、品質管理機構の破綻等により、小胞体内にミスフォールドしたタンパク質が蓄積することによって起こる。その結果、生命活動に様々な障害をきたす。小胞体ストレスに関わる疾患には、神経変性疾患、嚢胞性線維症など、臨床的にも注目される様々な難病が多く含まれることから、小胞体ストレスに関する研究は、細胞生物学的な観点のみならず、臨床的、病理的にも大変意義深いものである。

本論文において申請者は、真核生物における小胞体ストレス防御機構のより詳細なメカニズムを解明すべく、小胞体ストレスによって発現誘導を受ける遺伝子を検索し、その機能を解析するというアプローチで研究を行った。まず、機能的複合体を構成するすべての因子が小胞体ストレスによって一斉に発現誘導を受けるという初めての例として、TRAP (translocon associated protein) 複合体を位置づけ、今まで詳細な機能が不明であったこの複合体の機能解析を行った。その結果、TRAP複合体が、小胞体内に蓄積された不良品タンパク質を細胞質に逆輸送してユビキチン・プロテアソーム系を介して分解するという小胞体関連分解 (ERAD: ER associated degradation) 機構に関わることを明らかにした。

本論文は以下の諸点において評価することができる。第一に、いままで不明であったTRAP複合体の機能を細胞内で明らかにした点である。過去のTRAP複合体の機能に関する知見は、*in vitro*の再構成系における結果を基にしており、細胞内・生体内における機能は不明であった。本論文では、一般に困難とされる小胞体膜タンパク質複合体の機能解析に際し、合理的な理由付けのもと、目的に沿った実験・解析方法を選択し、明確な実験結果と詳細な考察に基づき、TRAP複合体の機能を明らかにした点が特筆される。

第二に、Sec61 transloconが、ERADにおける逆輸送チャネルであるという仮説を支持する結果を得た点である。現在、逆輸送に用いられるチャネル因子は他にも提唱されているが、本論文は、Sec61 transloconが逆輸送に使われるにあたり直接関連する因子を初めて同定し、Sec61 transloconが逆輸送に関わることを強く示唆するものである。小胞体関連分解における逆輸送チャネルの実態は、本研究分野において最もホットなトピックのひとつであり、その点においても、本論文は非常に注目される。また、TRAP複合体の作用機序についても、過去の様々な知見と照らし合わせたうえで、よく解析・議論がなされており、逆輸送チャネルの成熟機構などにおいて、魅力的なモデルが提唱されている。

もっとも、論文には改善される点はいくつかある。まず、本論文ではSec61 transloconに付随するタンパク質複合体であるTRAPがERADに関わることから、Sec61 transloconが逆輸送に使われると想定しているが、Sec61 transloconが逆輸送チャネルであるという直接的な証明には至っていない。また、ERAD機構におけるTRAP複合体の位置づけとして、とりわけ分解基質が逆輸送されたのちに働く因子の解析はまだ不十分であるが、これらの点は、今後の研究の進展によってクリアされていく課題であると考えられる。

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、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。