

氏 名	たけ だ こうじ ろう 武 田 鋼 二 郎
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2953 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 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	26S プロテアソーム核局在制御因子の機能解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 森 和 俊	教 授 永 田 和 宏	教 授 大 野 睦 人
--------	--------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

26S プロテアソームは細胞内の不要なタンパク質を分解するのみならず、サイクリン、セキュリンや CDK(Cyclin dependent protein kinase) の阻害因子である p21 など数多くの細胞周期制御タンパク質や、がん抑制因子 p53 などの選択的分解を通じて、細胞の主要な制御経路に関わっている。ユビキチン/プロテアソーム依存的タンパク質分解は、基質タンパク質に分解の指標となるユビキチンが付加される段階(すなわち E3 機能)での制御が主と考えられ、その部分では研究が発展してきたが、一方、最終的に基質を分解する 26S プロテアソームの段階での制御機構、特に細胞内のどの部分でプロテアソームを機能させるか、という細胞内局在機構の研究はあまり活発に行われてこなかった。

本研究では、2000年に報告された分裂酵母 Cut8 がプロテアソームの核局在を制御するという研究結果の後を受けて、さらにその分子機構を理解することを目指して解析をおこなった。その結果、ユビキチン共役酵素(E2) Rhp6/Ubc2 依存的な Cut8 のポリユビキチン化/不安定性がプロテアソームを核、特に核辺縁部に局在させるのに必須であることを明らかにした。Cut8 のユビキチン化は、Cut8 とプロテアソームの物理的相互作用を促進する働きをもつらしい。また、Rhp6/Ubc2 それ自体もプロテアソームの核局在に必須であった。Cut8 のユビキチン化を触媒するユビキチン連結酵素(E3)として Ubr1 と Rhp18 が潜在的な候補として考えられた。Ubr1 の遺伝子破壊株では効果は弱いながらプロテアソームの局在異常が観察された。また、Cut8 遺伝子破壊株が DNA 損傷に対して超感受性を示すことを明らかにした。興味深いことに、Cut8 のユビキチン化が DNA 損傷時の生存に必須であるらしい。Cut8 によって保障されるプロテアソームの核局在が DNA 損傷への応答に必要であることが考えられる。

最後に Cut8 の潜在的なホモログをショウジョウバエにおいて見いだした。機能解析の結果、この潜在的ホモログ CG5199 はプロテアソームの核局在に関与するらしい。Cut8 を介したプロテアソームの細胞内局在機構は高等真核生物においても保存されている可能性が示唆された。

以上の結果をふまえて、Rhp6/Ubc2 によってユビキチン化された Cut8 依存的に 26S プロテアソームは核膜近傍にアンカーされる、という作業仮説を提唱した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では、分裂酵母を用いて、細胞内の不要なタンパク質、様々な制御タンパク質の分解を司る 26S プロテアソームの細胞内局在を制御する機構が主に解析された。以前に分裂酵母 Cut8 タンパク質が 26S プロテアソームの核/核辺縁局在に必要であることが報告されており、その結果を基礎として、さらに詳細なプロテアソーム局在制御の分子機構の理解を目指した。

Cut8 タンパク質の不安定性/ユビキチン化がプロテアソームを正常に核局在させるのに必要であること、Cut8 のユビキチン化はユビキチン共役酵素(E2) Rhp6/Ubc2 であること、が示された。Cut8 のユビキチン化は Cut8 とプロテアソーム

間の物理的相互作用を促進することで、プロテアソームの核／核辺縁への局在を促すらしい。実際、ユビキチン化が低下するような Cut8 変異タンパク質は、プロテアソームを核局在させることができなかった。

また、同時に Cut8 タンパク質の新たな機能を示唆する結果として、Cut8 遺伝子破壊株が DNA 損傷を引き起こす処理（紫外線照射、変異源処理）に超感受性を示すことが報告された。プロテアソームの DNA 損傷修復への寄与が予想される。

最後に、Cut8 の潜在的ホモログをショウジョウバエにおいて見だし、解析の結果、ショウジョウバエにおいても Cut8 によるプロテアソーム局在制御の機構が保存されていることを示唆する結果を得た。

Cut8 のようなそれ自身がプロテアソームの基質である因子にプロテアソームの核局在が依存するという機構は、核内のプロテアソーム量の恒常性を保つ上で理にかなったものであると言える。プロテアソームの細胞内局在機構はほとんど研究の進んでいない分野であり、本論文の示した Cut8 ユビキチン化依存的なプロテアソーム局在制御モデルは独自性が高く、分野の進展に寄与するところが大いと言える。

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。