

博士論文審査報告書

氏名	阪上 春花 (サカエ ハルカ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博理第 9 1 号
学位授与報告番号	甲第 2 6 1 号
学位授与年月日	平成 2 8 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
論文題目	Studies on the N-terminal motif of PMP70 that suppresses cotranslational targeting to the endoplasmic reticulum 「合成と共役した小胞体標的化を抑制する PMP70 の N 末端モチーフに関する研究」
論文審査委員	(主査) 教授 城 宜嗣 (副査) 教授 西谷 秀男 (副査) 教授 阪口 雅郎 (副査) 教授 今高 寛晃 (兵庫県立大学工学研究科)

1. 論文内容の要旨

様々な膜タンパク質の生体膜への組み込みおよび選択的オルガネラ局在化は、細胞活動の根幹をなす過程である。真核細胞では、これらの大分部を小胞体の膜透過系が担っている。この過程では、シグナル認識粒子はじめ一連の疎水性配列識別機構が作用し、疎水性配列を特徴とする膜タンパク質は、合成と同時に小胞体に標的化される。一方、ペルオキシソーム膜タンパク質はこのような小胞体標的化機構を回避して、直接標的膜に輸送されることが考えられてきた。ペルオキシソーム膜タンパク質の局在化には、このような機構が必須であると想定されるにもかかわらず、これまで回避という観点からの研究がなされてこなかった。本論文では、ペルオキシソーム ABC 輸送体 (PMP70) の小胞体への膜組み込み特性とペルオキシソーム膜局在化との関連を、無細胞系と細胞系の両面から詳細に検討し、第一膜貫通配列が強い小胞体標的化作用を有すること及び、その作用がアミノ末端側の 80 残基によって抑制されることを発見した。その抑制作用にはアミノ末端の 12 残基 (N12)

で十分であることや、5位のセリンが必須であることを見出し、特定のアミノ酸配列がその抑制作用を示すことを明らかにした。その後、N12-融合タンパク質で、N12の作用が拮抗的に阻害されることを示し、作用因子の存在を示唆した。化学架橋実験によっても、N12結合因子を検出した。さらには、PMP70全長分子の5位のセリンからアラニンへの点変異で、局在がペルオキシソームから小胞体に変化することを認めた。これらの発見をもとに、疎水性の強い膜タンパク質の小胞体標的化を積極的に抑制するモチーフが存在するという新たな概念を提案した。

2. 論文審査結果

本論文は、真核細胞内のペルオキシソームへの膜タンパク質の選択的輸送に関して新規概念を提案している。細胞内の大半の膜タンパク質はリボソームでの合成と同時に小胞体に標的化され、膜に組み込まれ、機能的な構造を形成する。一方、独立した細胞オルガネラであるペルオキシソームへは、小胞体を介さず、直接輸送される機構が提唱されてきた。申請者は、膜タンパク質生合成の初発段階でおきる小胞体膜への標的化を抑制する機構を探求した。その結果、ペルオキシソーム膜タンパク質のアミノ末端に小胞体標的化を抑制する配列モチーフを発見し、構造特性を明らかにし、他の小胞体標的化シグナル配列に対する効果を確認した。さらに、それに作用する因子の検出に成功し、それを評価系として因子の分画精製を行い、候補タンパク質の同定にまで至った。この成果は、いまだ論争の多いペルオキシソーム膜タンパク質の生合成研究分野に、小胞体標的化抑制機能

(ER-targeting suppressor) の新規概念を提案し、新たな視点を提供するものである。

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、平成28年1月22日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。