

論文内容の要旨

申請者氏名 荻田 聡

分泌タンパク質は細胞質で翻訳が開始された後、翻訳と同時に小胞体内へと輸送されることで合成される。この翻訳共役型輸送機構を SRP 経路と呼び、生命を維持する上で基盤となるシステムである。この経路において、シグナル認識粒子(SRP)は基質タンパク質を小胞体へと輸送する際、翻訳の一時停止を引き起こす事が知られている。また、翻訳の一時的な停止は翻訳停止と呼ばれる現象であり、翻訳されたペプチド配列自身によっても翻訳停止が引き起こされることが知られている。そのペプチド配列を翻訳停止配列というが SRP 経路との関係性については明らかとなっていない。

XBp1u は哺乳動物で唯一、翻訳停止配列が同定されているタンパク質である。*XBp1u* mRNA は *XBp1u* 上の翻訳停止配列に依存して mRNA-リボソーム-新生ペプチド鎖の複合体(RNC)として小胞体膜上に局在化し、小胞体膜上でスプライシングを受けることで小胞体ストレス応答を誘導する転写因子を産生する。申請者は *XBp1u* mRNA の小胞体膜局在化における局在化因子の探索を試み、SRP 経路の構成因子を候補因子として同定した。そこで、*XBp1u* mRNA の小胞体膜局在化機構を明らかにするとともに、*XBp1u* 自身の翻訳停止配列と SRP 経路の関係性について解析を行った。

まず、SRP 経路による *XBp1u* mRNA の小胞体膜局在化を検討した。無細胞翻訳系における再構成系と免疫沈降法による結合解析によって、SRP は翻訳停止配列に依存して *XBp1u* タンパク質上の疎水性の領域(HR2)を認識し、小胞体膜上へと輸送することを見出した。そして、この SRP 経路による *XBp1u*-RNC の小胞体膜輸送の生理的な意義として、培養細胞を用いた SRP54 のノックダウン解析から、SRP は *XBp1u* mRNA の小胞体膜局在化、及びスプライシング反応を効率化することを明らかにした。

次に、SRP 経路における *XBp1u* 上の翻訳停止配列の役割について解析を行った。SRP による HR2 の認識に翻訳停止配列が必要な理由として、HR2 の疎水性度の低さ、HR2 下流の翻訳可能領域の短さが考えられたが、それらを補強した変異体の翻訳停止配列への依存性は変化しなかった。一方で、HR2 と翻訳停止配列の間に 115aa 挿入した変異体では、*XBp1u* mRNA の局在化効率の低下が見られたことから、翻訳停止配列による翻訳停止が適切な位置で起こることで SRP による HR2 の認識を誘導することが示唆された。

以上の結果から、*XBp1u* においては *XBp1u* 上の翻訳停止配列が SRP による基質認識を誘導することで、SRP 経路を介した *XBp1u* mRNA の小胞体膜局在化を可能にする事、さらに、この局在化機構によって SRP 経路が小胞体ストレス応答を促進することが明らかとなった。今回明らかになった翻訳停止配列の共役による SRP 経路を介した小胞体局在化は、従来の SRP 経路とは順序の異なる新たな局在化様式であると考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 荻田 聡

本研究は2つの点において新たな分子機構を示唆する結果を得たと評価できる研究である。

一つは、SRP 経路による小胞体ストレス応答の効率化における分子機構を明らかにした点である。SRP 経路は細胞質から小胞体へとタンパク質を輸送する経路であり、小胞体におけるタンパク質合成の多くを担う生命の基礎を担う機構である。一方、小胞体ストレス応答は、小胞体内の異常タンパク質の生成を監視し、環境ストレスによる異常やタンパク質合成量の増加に応じてタンパク質品質管理機構の処理容量を拡張する細胞内応答である。本研究によって、SRP 経路は *XBP1u* mRNA の小胞体膜局在化を担うことで、*XBP1u* mRNA の小胞体膜上における特殊スプライシングを効率化することを明らかにした。この *XBP1u* mRNA のスプライシングは小胞体ストレス応答を誘導するための重要なステップである。この結果から、SRP 経路という小胞体におけるタンパク質合成系を担う仕組みが、小胞体の品質管理機構の増強を促進することで、小胞体の恒常性を維持することを示唆された。

もう一つは、SRP 経路において翻訳停止配列の共役による新たな局在化様式を明らかにした点である。翻訳停止配列は、リボソームによって翻訳されると翻訳反応の一時的な停止を引き起こすペプチド配列である。この生理的な機能については、当研究室の先行研究において、*XBP1u* mRNA の小胞体局在化に必要であることが証明されている。しかし、現時点では翻訳停止配列が同定されているタンパク質が唯一、*XBP1u* のみであるため、天然の翻訳停止配列の機能はほとんど明らかとなっていなかった。本研究では、*XBP1u* のもつ疎水性領域(HR2)は、SRP 経路における SRP による認識を受けるが、タンパク質輸送チャネルであるトランスロコンによる小胞体膜への挿入を受けにくいことから、HR2 は不完全なシグナルペプチドとして機能することが示唆されている。そして、この HR2 が SRP 経路によって認識されるためには HR2 の下流の適切な位置関係で *XBP1u* 自身の翻訳停止配列による翻訳停止が起こる必要があることを明らかにした。SRP 経路において、基質タンパク質自身の翻訳停止配列が SRP 経路による認識に必要であるという報告はほとんどない。そのため、本研究で示唆された基質タンパク質の翻訳停止配列が SRP 経路による認識を誘導するという分子機序は、SRP 経路において新たな分子機序であり、翻訳停止配列のより広範な生理的な役割を示唆する結果である。

以上のように、本論文は SRP 経路と翻訳停止配列の共役による新たな小胞体局在化様式と、それによる小胞体ストレス応答の効率化を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。