

論文内容の要旨

申請者氏名 Mai Chi Thanh

細胞膜には様々な多数回膜貫通タンパク質が存在し、それらの多くは細胞膜を経た物質輸送を司るトランスポーターとして機能する。他の細胞膜タンパク質と同じく、多数回膜貫通タンパク質についても、小胞体にて膜への挿入や折り畳みが行われ、正常な高次構造をとった分子だけが小胞輸送経路に乗り、ゴルジ体を経て、細胞表層へと運ばれる。他の研究室の先行研究により、多数回膜貫通タンパク質をコードする遺伝子に変異が入った場合、その産物タンパク質は細胞表層まで輸送されず、小胞体膜上で集合し、特異なコンパートメント (Endoplasmic reticulum-associated compartments: ERACs) を形成して、そこに局在することが見出されている。以上の背景をもとに、申請者の研究は、ERACs の性状や存在意義を明らかにすることを目的とした。

申請者はまず、細胞膜局在 H⁺ポンプ Pma1 をモデルタンパク質として、蛍光タンパク質 mCherry にて標識したもの (Pma1-mCherry) を酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の細胞にて発現させ、蛍光顕微鏡観察により挙動を観察した。その結果、野生型 Pma1-mCherry は細胞表層および液胞に輸送されるのに対し、その点変異体 (Ser770Pro) である Pma1-2308-mCherry は小胞体上で点状の分布を示すことが分かった。他の既知の ERACs 形成タンパク質も Pma1-2308-mCherry と共局在することから、Pma1-2308-mCherry は ERACs 形成能を有し、ERACs に局在すると結論づけられた。

小胞体の機能障害や機能不全は小胞体ストレスと総称され、小胞体ストレスセンサータンパク質 Ire1 を活性化し、Unfolded Protein Response (UPR) を引き起こす。すなわち、小胞体ストレス状態では、小胞体で機能する分子シャペロンなどが発現誘導され、小胞体の機能は回復する。一方、Pma1-2308-mCherry を発現する酵母細胞では UPR が惹起され、また、*IRE1* 遺伝子の破壊は Pma1-2308-mCherry 発現による増殖阻害を悪化させることから、Pma1-2308-mCherry の発現は小胞体ストレスを引き起こすと考えられる。

4-フェニル酪酸 (4-phenylbutyric acid:4-PBA) は低分子のケミカルシャペロンとして働き、タンパク質の凝集を阻止することが知られている。ERACs は折り畳み不全タンパク質の集積と凝集によって形成されると考えられており、期待通り、Pma1-2308-mCherry による ERACs は、酵母細胞を 4-PBA 存在下で培養することによって解消した。なお、4-PBA 存在下では、Pma1-2308-mCherry は小胞体全体に拡散する。そして、この状態では UPR は増強され、また細胞の致死率が上昇した。この知見は、ERACs の形成が、ERACs 構成タンパク質による細胞毒性を低減していることを示唆している。すなわち、ERACs は有害なタンパク質の細胞内隔離に寄与している可能性がある。

やむを得ない事由 [図書出版、○学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他 ()] により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Mai Chi Thanh

細胞内で正常な高次構造を形成できず、変性状態で蓄積したタンパク質は、本来の機能を発揮できないだけでなく、細胞にとって有害である場合が多い。その毒性発揮メカニズムとしては、他の正常なタンパク質に結合し、その機能を妨害することが挙げられる。アルツハイマー病などヒトの神経変性疾患に例示されるように、変性タンパク質の凝集体形成は疾病の指標となる。また、酵母を含む他の生物種においても、変異型タンパク質が細胞内で集積し、凝集している事例は数多く報告されている。よって旧来は、変性タンパク質の凝集体が細胞にとって有害であると考えられてきた。しかし、それに対抗する仮説として、最も毒性が高いタンパク質は変性しているが、凝集していない状態であり、タンパク質の凝集はむしろ毒性の低下に繋がるという考えも提示されている。すなわち、タンパク質の凝集は細胞にとって単に有害な事象なのか、あるいは、何らかの生理的意義を有する事象であるか、未だ不明瞭である。

申請者は、本学の博士後期課程に進学する以前（本学バイオサイエンス研究科の博士前期課程在籍時）、ケミカルシャペロンとして知られる 4-フェニル酪酸（4-phenylbutyric acid:4-PBA）が酵母細胞に及ぼす作用に焦点を当てた研究を進めてきた。申請者の博士學位論文における研究は、それを発展させるものである。本来は細胞表層に運ばれるべき多数回膜貫通タンパク質について、その高次構造形成が不全となった場合、小胞体に留まり小胞体上の特異なコンパートメント（Endoplasmic reticulum-associated compartments: ERACs）に集積する。申請者はプロトンポンプタンパク質 Pma1 をモデルとして、ERACs の性状や存在意義に関わる研究を進めてきた。一般に、野生型 Pma1 は細胞膜に運搬されるが、申請者が取得した変異型 Pma1（Ser707Pro）は、小胞体に残留して ERACs を形成した後、ERACs に集積された。申請者の結果から、細胞を 4-PBA 存在下で培養することにより、ERACs は解消し、変異型 Pma1 は小胞体全体に拡散して存在するようになる。さらに申請者は、変異型 Pma1 発現による細胞へのダメージが、4-PBA によって増強されることを見出した。これらの知見は、第一に、そこに集積する高次構造形成不全タンパク質が凝集して、ERACs が形成されることを示している。そして第二に、ERACs への高次構造形成不全タンパク質の集積が、細胞のダメージを低減していることを示唆している。すなわち、申請者の結果は、タンパク質の凝集が細胞にとって保護的な作用を有する事例を提示するものである。

以上のように、本論文は細胞内でのタンパク質凝集という公知の事象について、新たな生理的意義を提唱するものであり、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）の學位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由[図書出版,○学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】