

博士論文審査報告書

論文題目：Regulation of protein translocation through the ER translocon
「小胞体トランスロコンにおけるタンパク質輸送の制御要因に関する研究」

申請者：藤田 英伸

1. 論文内容の要旨

生体膜を通したタンパク質の輸送や、生体膜への膜タンパク質の組み込みは、細胞形成の根幹をなす過程である。真核細胞では、これらの大半を小胞体の膜透過系がこなす。これまで、小胞体のタンパク質輸送装置であるトランスロコンを介したポリペプチド鎖の輸送について、疎水性配列が膜透過を停止して膜に組み込まれることや、正電荷をもつアミノ酸残基が疎水性配列の膜定着を亢進することが示唆されてきた。しかし、これらの要因の作用機構が明らかではなかった。本論文では、小胞体トランスロコンにおけるポリペプチド鎖の膜透過に対する疎水性配列と正電荷残基の作用機構を詳細に検討した。その結果、正電荷残基が 60 残基以上離れた低疎水性配列の膜透過停止に寄与できること、及び小胞体内腔に露出した低疎水性配列の膜への逆移動を誘起して膜貫通トポロジー形成を引き起こすことを明らかにした。また、ポリペプチド鎖上の正電荷残基の動きを観測できる実験系を設定し、正電荷だけで膜透過の一時停止が起きることや、この作用が静電的相互作用によることを明らかにした。これらの成果によって、経験則として広く認知されてきた膜タンパク質のトポロジー形成における正電荷残基の効果に対する分子基盤が明らかになった。また、膜を通したタンパク質の輸送現象研究に新たな視点を与えた。

2. 論文審査結果

本論文は、真核細胞における生体膜形成の大部分を担う小胞体での膜タンパク質の構造形成過程を、無細胞実験系を用いて詳細に調べ、膜組み込み途上の新生ポリペプチド鎖に存在する正電荷アミノ酸残基の構造規定作用の詳細を明らかにしたものである。これまで、生体膜に存在する膜タンパク質の細胞質側には正電荷アミノ酸残基が高頻度で存在するとした経験則が認知されてはいたが、これが果たす作用の分子基盤についての知見はなかった。この研究では、無細胞系を用いて、正電荷が発揮するポリペプチド鎖膜配置作用および膜透過チャネルでの膜透過速度を計測できる実験系を設定することに成功した。これを用いて、まず、新生鎖上の正電荷残基が 60 残基以上離れた弱疎水性配列の膜組み込みに寄与できることを示した。疎水性度の弱い配列は小胞体内腔に一時的に露出した後、60 残基

後方に存在する正荷電残基によって逆移動し、膜貫通状態となった。続いて、疎水性配列の無い条件で正荷電アミノ酸残基の効果を計測し、疎水性配列とは無関係に、膜透過チャネル入り口で、静電的相互作用を基に、動きを一時的に抑制することを明らかにした。これらの成果は、小胞体膜透過チャネルにおける正荷電残基の膜トポロジー規定効果の作用基盤を解明し、膜タンパク質の構造形成に関する理解を大きく進めるものである。

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25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。

主査： 阪口 雅郎 印

副査： 樋口 芳樹 印

： 吉田 秀郎 印

： 秋山 芳展 印
(京都大学ウイルス研究所、教授)