

# 論文審査の結果の要旨

氏名 西 井 亘

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションであり、近年、既存の4種の典型的プロテアーゼ（セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、メタロプロテアーゼ）とは異なる非典型的な触媒機構をもつプロテアーゼが次々と見つかっていること、また、これらが細胞内で重要な機能を担っていることが述べられている。本研究では、これら細胞内非典型的プロテアーゼの独特な性状を解析し、生理機能とどのような関連があるのか、また、これらが進化の過程でどのように生じたのか検討している。

第2章は、ATP依存性プロテアーゼ Lon および Hs1VU による細胞分裂阻害蛋白質 Su1A の分解機構について述べられている。ATP 存在下で Lon は、Su1A (189 残基) の 27 ヶ所のペプチド結合を切断するが、その内の 6 ヶ所は、他よりも優先的に切断する。これらの位置は、Su1A の細胞分裂阻害活性に重要な部位と極めてよく一致する。また、これら優先切断部位においては、明らかな一次構造上のコンセンサスがみられるが、このコンセンサス配列が Su1A の機能的に重要な部位を優先切断するための標識として働くとすれば非常に興味深い。一方、Hs1VU も ATP 存在下で Su1A をプロセッシブ分解することが示されている。分解速度は Lon のそれと比べずっと遅いが、Hs1VU により切断される 39 ヶ所のペプチド結合の内 7 ヶ所は他よりも優先的に切断される。これらは Lon による優先切断部位の近傍に位置しており、やはり Su1A の機能部位とよく対応している。すなわち、Lon および Hs1VU による Su1A の分解機構は、分解速度や切断部位などの点では互いと異なるが、いずれも基質の機能部位を優先切断しており、基質の機能を確実に抑制するために周到かつ徹底的な戦略をとっている。このような分子機構の存在を示唆したのは、本研究が最初であり、極めて意義深いといえる。

第3章は、セリン・カルボキシルプロテアーゼ physarolisin I, II の性状について述べられている。physarolisin I は酸性プロテアーゼであるが、阻害剤感受性や分子量等の点で、非典型的な性質を多数持つ。本研究では、本酵素の cDNA クローニングと性状解析を行っている。その結果、575 残基からなるプレプロ酵素の一次構造が推定され、最近同定された新しいプロテアーゼファミリーであるセリン-カルボキシルプロテアーゼに相同性をもつことが示された。しかし、physarolisin I は二本鎖構造である、アスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤の DAN に阻害される、基質特異性が独特であるなど、ホモログ酵素とは異なるユニークな性状をもつ。一方、データベース検索より、同じ真性粘菌由来の php 遺伝

子産物が phylasrolisin I のホモログであることがわかった (phylasrolisin II). この蛋白質を大腸菌で大量調製し性状を解析したところ, 酸性条件下でユニークな endopeptidase 活性を示し, 興味深いことに低温適合酵素であることが示された. 両酵素がもつ独特な性状と生理機能との関連は非常に興味深い.

第 4 章は, CAAX プロテアーゼの性状について述べられている. 本酵素は, イソプレニル化蛋白質を基質とする異色のプロテアーゼであり, 蛋白質の局在や分子間相互作用に重要な役割を担っている. 本研究では, 蛍光基質を用いる新規活性測定法を用いて, 本酵素をウシ脳ミクロソームより 104 倍に部分精製し, 性状解析を行っている. 部分精製酵素は, ファルネシル化された CAAX 配列に特異的な endopeptidase であり, 基質親和性は極めて高い. また, 酵素活性は,  $\alpha$ -phenanthroline および  $ZnCl_2$  により阻害されるが, 他の阻害剤による影響は殆ど受けない. 従って, 本酵素は既知のプロテアーゼファミリーには属さない新規の触媒機構をもつことが予想され, その生理的重要性と併せ, 極めて興味深い知見といえる.

第 5 章は以上の結果の総括である. 非典型的プロテアーゼは, あらゆる生物種に普遍的に存在する典型的プロテアーゼと異なり, 進化の過程で後天的に獲得したプロテアーゼであると考えられる. 本研究では, 非典型的細胞内プロテアーゼの独特な性状が, 高等生物の複雑な細胞機能と密接に関わることを明らかにしており, 極めて興味深い.

なお, 本論文第 2 章は, 丸山貴史, 松岡理恵子, 村松知成, 高橋健治との, 第 3 章は, 植木知子, 宮下理衣, 栗山宏樹, 小島正樹, 金龍泰, 佐々木成江, 室伏きみ子, 高橋健治との, 第 4 章は, 村松知成, 口野嘉行, 横山茂之との共同研究であるが, 論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので, 論文提出者の寄与が十分であると判断する.

したがって, 博士 (理学) の学位を授与できるものと認める.