

論文審査の結果の要旨

氏名 藤原 慶

本論文は5章からなり、第1章はなぜ細胞内における GroEL/ES の役割を解明する必要があるのかについて研究の背景と目的を述べている。第2章にて GroEL/ES の機能欠損による細胞分裂異常機構を解明した結果について述べている。第3章は細胞内における GroEL/ES 依存基質を網羅的に同定した結果について述べている。第4章は GroEL/ES が発現抑制された場合にいくつかのタンパク質が過剰発現する原因をメチオニン生合成酵素群の発現変化を通して解明した結果について述べられている。そして第5章では、これらの結果をまとめて細胞内での GroEL/ES の機能を考察し、GroEL/ES の量が限られていることから代謝の多様化が引き起こされたという仮説を提唱している。

具体的には、2章では表現型を通じた細胞内における GroEL/ES の役割の解析を行った。GroEL/ES を発現抑制すると、大腸菌は細胞分裂ができずフィラメント状になることが知られていた。GroEL/ES 発現抑制により細胞分裂経路のどの段階に異常が起きているかを観測することを通し、細胞分裂の必須因子 FtsE が機能していないことを示した。また、FtsE が GroEL/ES 依存基質であることを再構成型無細胞翻訳系である PURE システムを用いた解析で明らかにした。さらに相補実験により、GroEL/ES の発現抑制にともなう細胞分裂異常の原因は、FtsE のみであることを明らかにした。

3章では、GroEL/ES 依存基質の網羅的同定を行った。まず、GroEL/ES 正常発現時と発現抑制時でそれぞれ基質候補を過剰発現し可溶性を比べる方法が、2章で得た結果や現在までの研究による知見と良く一致し、細胞内での GroEL/ES 依存性を判断できる系であることを示した。この方法を利用し、細胞内での GroEL との結合率の高さと GroEL/ES 依存性がよく相関すること、GroEL との結合率が高くても細胞内で GroEL/ES に依存せずにフォールディングできるタンパク質群があることを示した。さらにプロテオーム解析の情報や、本章で同定した GroEL/ES 依存基質ホモログの GroEL/ES 依存性を解析することで、今までに候補として挙げられていなかった GroEL/ES 依存基質も同定した。また、細胞内で GroEL と結合率が高いが、フォールディングに GroEL/ES を必要としない GroEL/ES 優先基質が存在することも示唆した。

4章では GroEL/ES がどのようにメチオニン生合成酵素の発現調節に関与しているかを解析した。GroEL/ES 依存基質 MetK のほかの生物種におけるホモログがフォールディングに GroEL/ES を必要としないことを利用し、GroEL/ES の機能抑制によりメチオニン生合成酵素群の発現が上昇するのは、MetK のフォールディング不全が一番の原因であることを示した。この解析を通し、MetK は細胞内の GroEL/ES 量を感じ取るシステムではないか、という仮説を提唱した。

5章にて、これらをまとめてシャペロニン GroEL/ES の細胞内における役割を議論し、GroEL/ES 依存性が生じるメカニズムを進化的側面、物性的側面から提言した。
なお、本論文第3章は、慶応大学鶴岡キャンパスの曾我朋義教授、中東憲治准教授、石濱泰准教授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（生命科学）の学位を授与できると認める。