

# 論文審査の結果の要旨

氏名 丹羽 達也

本論文はタンパク質の凝集および分子シャペロンの基質認識について述べられている。

タンパク質はリボソーム上で合成された後、フォールディングと呼ばれる過程を経て固有の構造を取ることによって機能を発揮すると考えられている。しかし、全てのタンパク質が自発的に固有の構造を取れるわけではなく、分子シャペロンと呼ばれる一群のタンパク質の助けがないと、凝集という不活性な集合体を形成してしまうタンパク質も数多く知られている。このような現象は細胞内や試験管内で起こる現象として経験的に知られているが、どのようなタンパク質が凝集を形成しやすいのか、またどのようなタンパク質が分子シャペロンの助けを受けやすいかなどについてはまだ十分に理解されているとはいえない。そこで論文提出者は網羅的な解析手法を用いることによって、先の問題に対する新たな知見を得ることを目標とした。

実験手法には、多種類のタンパク質を合成するために、共同研究者である東京大学 上田卓也教授のグループによって開発された再構築型の無細胞タンパク質合成系 **PURE system** を用いている。この系はタンパク質の翻訳に必須な因子のみを再構成した系であり、細胞抽出液を用いた従来の無細胞タンパク質合成系が持つ利点（多種類のタンパク質を短時間で調製できる、翻訳反応と共役した条件でのタンパク質の挙動を調べられる）に加え、分子シャペロンがない条件で、また特定のシャペロンのみが存在する条件でタンパク質合成を行うことができる。そのため、分子シャペロン非存在下でのタンパク質の凝集性や、特定のシャペロンによる凝集抑制効果を評価するのに非常に適した系であるといえる。

この系を用いて論文提出者は分子シャペロンがない条件で大腸菌が持つ全遺伝子（約4千個）全てを翻訳し、タンパク質の凝集しやすさを網羅的に調べた。全てのタンパク質のうち、凝集しやすさの評価ができた約7割について凝集しやすさの分布を調べたところ、その分布は可溶性の高い部分と凝集性の高い部分に山を持つ二峰性を示した。この両者のグループについて、統計的な手法によってタンパク質の様々な性質を比較したところ、分子量、等電点、負電荷および芳香環を持つアミノ酸の組成、二次構造、立体構造などで差がみられた。その一方で、凝集と関係すると考えられた疎水性については、凝集性との相関はみられなかった。また、凝集性の高い集団は特定の分子シャペロンの基質をより多く含んでいた。

分子シャペロンがない条件で凝集したものに対して、今度はシャペロンが存在する条件でタンパク質を翻訳させ、凝集が解消されるかを調べた。シャペロンとしては、大腸菌の細胞質で働く主要なシャペロンである Trigger Factor、GroEL/ES、DnaK/DnaJ/GrpE の3種を選んだ。3種それぞれの凝集抑制効果を評価したところ、GroEL/ES、DnaK/DnaJ/GrpE は様々なタンパク質に対して効果を示した。一方 Trigger Factor はごく少数のものに対してしか凝集抑制効果を示さなかった。

GroEL/ES と DnaK/DnaJ/GrpE の基質特異性については、凝集抑制効果と様々な性質とを比較したところ、分子量では両者の特異性に違いがあり、等電点では両者とも似たような特異性を示すことが確認された。アミノ酸の組成でも両者の特異性に差異および共通性がみられた。

さらに、既存の研究では同定されなかったものの中から凝集抑制効果を基に GroEL/ES の基質となりそうなものを選び、それらについて実際に基質となるかどうかの評価を行ったところ、29個の候補のうち22個という高確率で新規の GroEL/ES 基質を同定した。

本論文において特筆すべき点として、ユニークな実験系を用いてタンパク質の凝集および分子シャペロンの基質認識についての大規模なデータセットが得られたということが挙げられる。このような同一の実験による大規模なデータセットは前例がなく、大きな価値を持つものである。そしてこのデータセットに対して統計的な解析を行うことで、タンパク質の凝集やフォールディングの理解につながるような示唆が得られた。分子量や等電点など、経験的な予想と合う結果をデータとして示した点に加え、疎水性が凝集性と関係しないことや、立体構造が凝集性と関係しないことなど、一見するとこれまでの経験や事実に反するように見える結果が得られたことは、凝集やフォールディングを考える上での新たな視点を生み出すことに繋がりうる、大きな意義を持つものであるといえる。

なお、本論文は、東京大学 上田卓也教授、イン・ベイウエン博士（現大阪大学）、斎藤克代修士、および京都大学 高田彰二准教授、金文珍博士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。