

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	タンパク質凝集ストレスを感知してシャペロンが発現する機構の解析
Title(English)	
著者(和文)	三輪つくみ
Author(English)	Tsukumi Miwa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11672号, 授与年月日:2020年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田口 英樹,岩崎 博史,木村 宏,加納 ふみ,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11672号, Conferred date:2020/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	三輪 つくみ	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	田口 英樹	教授	藤田 尚信	准教授
	審査員	岩崎 博史	教授		
		木村 宏	教授		
加納 ふみ		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「タンパク質凝集ストレスを感知してシャペロンが発現する機構の解析」と題し、九章より構成されている。

第一章「序論」では、タンパク質凝集と分子シャペロンについての概説に続き、低分子量熱ショックタンパク質 (sHsp) の機能と既知の発現制御機構について述べている。また、過去の報告に端を発し、大腸菌の sHsp である IbpA がタンパク質凝集に応答する可能性を指摘し、未知の発現制御機構の解明という本研究の目的を述べている。

第二章「実験材料と方法」では、本研究で用いた研究試料と実験方法について説明している。試料の一覧とその作成方法の紹介に続き、本研究で行なった各種タンパク質発現評価や物性評価の方法について説明している。

第三章「タンパク質凝集の蓄積と *ibpA* 翻訳の関係性」では、タンパク質凝集の蓄積に伴う IbpA の発現量の変化を評価した結果について述べている。タンパク質凝集の蓄積に伴い IbpA の発現が上昇することを IbpA 発現量評価の結果により示し、次いで行なった mRNA 定量やレポーター系を用いた発現評価の結果より、発現上昇が 5'非翻訳領域に依存した翻訳開始調節によるものであることを述べている。

第四章「IbpA タンパク質による *ibpA* 翻訳阻害」では、細胞内 IbpA の存在量と *ibpA* 翻訳効率の関連について検証した結果を述べている。タンパク質凝集の蓄積が IbpA の細胞極への局在を伴うことを顕微鏡観察により検証した結果、また *in vivo*, *in vitro* におけるレポーター系発現評価の結果から、タンパク質凝集の蓄積により引き起こされる細胞内遊離 IbpA の減少が自身の翻訳を正に制御していることを述べている。また、レポーター発現に対するタンパク質凝集の蓄積と *ibpAB* オペロン欠損の寄与を比較した結果から、翻訳の自己抑制がタンパク質凝集蓄積応答の中心的機構である可能性を論じている。

第五章「IbpA と IbpB の翻訳抑制能における共通性」では、IbpA の細胞内ホモログである IbpB に着目し、翻訳抑制における両者の共通性を評価した結果について述べている。*in vivo*, *in vitro* におけるレポーター系発現評価の結果から IbpA が *ibpB* 翻訳も抑制すること、また IbpB タンパク質が翻訳抑制能を持たないことを示し、IbpA が sHsp としての既知の機能のみではなく、*ibpAB* オペロンの翻訳制御因子として機能する可能性について考察している。

第六章「*ibpA* 翻訳抑制における IbpA 責任領域の決定」では、IbpA の翻訳抑制に必要なアミノ酸領域を特定した結果について述べている。レポーター系発現に対する IbpA ドメイン欠損変異体の寄与を評価した結果より、IbpA の翻訳抑制を担うドメインが C 末端ドメインであることを特定し、次いで行った既知のモチーフを対象とした IbpA 変異体解析と IbpA オリゴマー形成能評価により、IbpA の翻訳抑制能がオリゴマー形成モチーフである IEI モチーフにより担われていることを示している。

第七章「IbpA による *ibpA* 翻訳抑制機構の検証」では、IbpA と *ibpA* mRNA の相互作用を検証した結果について述べている。IbpA と *ibpA* mRNA の結合を電気泳動によるゲルシフトアッセイにより検証した結果より、IbpA と mRNA の結合様式についての考察と翻訳抑制における他因子との協働の可能性を述べている。

第八章「IbpA による *ibpA* 翻訳抑制機構に関する仮説の検証」では、第七章で論じた他因子との協働による *ibpA* 翻訳抑制について検証を行った結果を述べている。過去に IbpA との相互作用が示されているリボヌクレアーゼである PNPase の *ibpA* mRNA 分解への寄与を、レポーター系を用いた検証と RNA 定量によって示し、IbpA と PNPase による *ibpA* 翻訳抑制機構について考察している。

第九章「総括」では、本研究で得られた結論をまとめ、今後の展望について述べている。

以上を要するに、本論文は大腸菌の低分子量熱ショックタンパク質 IbpA が自身の翻訳抑制を介してタンパク質凝集の蓄積を感知、応答する機構を明らかにしたものであり、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。