

## イスラム ムハマド タンヴィル 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

Deviation of the typical AAA substrate-threading pore prevents fatal protein degradation in yeast Cdc48

(酵母 Cdc48 における基質糸通しに係る典型的な AAA ポアからの逸脱は致死性タンパク質分解を抑制する)

Cdc48 は真核生物で保存された AAA ファミリー ATPase であり、タンパク質のホメオスタシスに関わっている。一般に AAA ファミリーに共通の AAA ドメインは、6 量体で中央部にポアを有するリング状構造を形成し、基質タンパク質をそのポアから糸通しすることによってアンフォールディングする。ポアに面した構造には「ΦXG」モチーフ (Φ: 芳香族アミノ酸, X: 任意のアミノ酸, G: グリシン) が保存されている。Cdc48 は二つの AAA ドメインを有するが、N 末端側の AAA ドメインでは「ΦXG」モチーフが欠落し、「MAG」(芳香族アミノ酸がメチオニン) に置換されている。Cdc48 の C 末端は 20S プロテアソームとの結合に関わるモチーフを有する。本研究では、出芽酵母の Cdc48 における N 末端側の AAA ドメインの機能や 20S プロテアソームとの関係の解析を行い、Cdc48 の作用機構を明らかにすることを目的とした。

出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いて、染色体の *CDC48* 遺伝子を欠失させ、野生型または変異型の Cdc48 を発現するプラスミドを導入した株を作製した。また、Cdc48 のコファクターの解析では、変異型 Cdc48 の発現を誘導する酵母システムを構築した。コファクターとの相互作用や基質分子の検索には生化学的手法を用いた。

「MAG」のメチオニンを芳香族アミノ酸に置換 (M288Φ) すると、いずれの芳香族アミノ酸でも致死性を示した。一方、他のアミノ酸への置換は致死性を示さなかった。また、ATPase の活性を阻害する変異の導入は M288Φ の致死性を抑制した。Cdc48 に結合する Ufd2 (E4 ubiquitin ligase) を欠失させると M288Φ の致死性を抑制した。Cdc48 の C 末端モチーフの変異や欠失は M288Φ による酵母の生育障害を抑制した。さらに、C 末端に GFP を融合させて立体障害を誘導しても同様の結果が得られた。以上より、Cdc48 の M288Φ 変異体は生育に必須タンパク質のポア糸通しを行い、20S プロテアソームで異常分解することによって死を誘導することを示した。また、プロテオミクスアプローチによって M288Φ の基質候補を複数見出し、Sod1、Shm2、Ths1 が M288Φ 変異体で分解が亢進していることを見出した。

審査では、(1) ヒトのホモログでの解析、(2) プロテアソーム阻害薬 MG132 の効果、(3) Cdc48 以外の AAA ドメインを 2 つもつ分子、(4) 膜分画での基質タンパク質の検索、(5) 酵母の形態、(5) N 末端の AAA ドメインの機能、(6) 同定した基質タンパク質の欠失による致死性、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、Cdc48 が典型的な「ΦXG」モチーフから逸脱することによって致死性タンパク質分解を抑制していることを明らかにし、従来の AAA の作用機構モデルと異なったメカニズムで機能していることを示唆するものであり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長

細胞情報薬理学担当教授

中西 嘉之