

Study on mammalian peroxisome biogenesis :
Peroxisomal membrane proteins are assembled via
the direct Pex19p-Pex3p pathway

劉, 玉瓊

<https://doi.org/10.15017/1654678>

出版情報 : 九州大学, 2015, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : 全文ファイル公表済



氏 名	劉 玉瓊		
論 文 名	Study on mammalian peroxisome biogenesis: Peroxisomal membrane proteins are assembled via the direct Pex19p-Pex3p pathway (哺乳類ペルオキシソームの形成機構に関する研究: ペルオキシソーム膜タンパク質は Pex19p-Pex3p 経路を介して直接膜へ輸送され組み込まれる)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 田村 茂彦
	副 査	九州大学	教授 久下 理 (理学府)
	副 査	九州大学	教授 竹川 薫 (生物資源環境科学府)

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ペルオキシソームは酵母からヒトに至る真核生物全般に広く存在するオルガネラであり、極長鎖脂肪酸(炭素鎖C₂₂以上)のβ酸化、プラスマローゲン型エーテルリン脂質の生合成やドコサヘキサエン酸(DHA)の合成などの脂質代謝をはじめ多くの代謝機能を有し、その障害は Zellweger 症候群など遺伝性の致死的疾患いわゆるペルオキシソーム欠損症(異常症)をもたらす。その異常症の病因 *PEX* 遺伝子の同定と並行し、*PEX* 遺伝子の翻訳産物(peroxin; ペルオキシン)の機能解析も進められ、大きな進展を得ている。ペルオキシソーム生合成におけるペルオキシン機能は、ペルオキシソーム膜タンパク質(PMP)の輸送・局在化と初期膜の形成、マトリクスタンパク質の輸送、そして分解や分裂・増殖による機能制御の3つに大別される。本申請者は下記の項目から、PMP 輸送の分子機構について研究を遂行した。

ペルオキシンのうちペルオキシソーム膜局在性の Pex3p と Pex16p、および主にサイトゾルに局在する Pex19p は、PMP 輸送に必須な因子である。Pex19p はシャペロン活性を有し、ペルオキシソーム局在化シグナル(mPTS)を持つ PMP のサイトゾルレセプターとして機能する。複数の PMP において正電荷アミノ酸を近傍に持った膜貫通領域が PMP 局在化シグナルとして報告されている。Pex19p は新規合成された殆どすべての PMP をサイトゾル中で認識し、複合体を形成する。さらに、この複合体はペルオキシソーム膜上に存在する Pex3p に結合する。一方、サイトゾル中で翻訳された Pex3p は Pex19p に認識され、膜上の Pex16p を標的としてペルオキシソームへ局在化される。最近、テイルアンカー型のペルオキシソーム膜タンパク質である Pex26p の局在化メカニズムを解析した結果、新生 Pex26p はサイトゾル中で Pex19p に捕捉された後、Pex19p と Pex3p との結合依存的にペルオキシソーム膜へ直接ターゲティングされる(Class I経路と呼ばれる)ことを明らかにした。しかしながら、PMP の輸送経路については哺乳動物細胞または酵母を用いた実験系で統一された見解が未だ得られていない。とくに哺乳動物における様々な PMP、特に multi-spanning PMP は、同様に Class I 経路で局在化されるのか、そして、Class I 経路が哺乳類の PMP 局在化にどの程度まで関わっているのか不明なままであった。

本申請者は、哺乳動物細胞由来で代表的なトポロジーを持ついくつかのペルオキシソーム膜タンパク質の膜局在化機構について詳細な解析を行った。まず、PMP は Pex19p および Pex3p 依存的に膜

局在化することを明らかにするため、*PEX19* または *PEX3* をノックダウンした細胞での **PMP** 局在を観察した。その結果、**Pex19p** と **Pex3p** が **PMP** のペルオキシソーム膜局在化に必須であることを示した。次に、**PMP** と **Pex19p** を共発現させた細胞では **PMP** がサイトゾル画分から回収されたことから、**Pex19p** と **PMP** はサイトゾルにて複合体を形成することが示唆された。こうして得られた **Pex19p-PMP** 複合体がペルオキシソームへターゲティングされるかについて調べるため、セミインタクト細胞を用いた実験系によって **PMP import assay** を行った。その結果、**PMP** はペルオキシソーム膜上で観察され、この **PMP** は **alkaline extraction** 処理した後も膜画分に回収された。つまり **Pex19p-PMP** 複合体由来の **PMP** は、真在性の膜タンパク質としてペルオキシソーム膜に局在していることを示している。一方、**Pex3p** との結合能を失った **Pex19p** と **PMP** の複合体はペルオキシソーム膜へターゲティングされず、**PMP** のペルオキシソーム膜への局在は **Pex19p** と **Pex3p** の結合に依存的であることを示した。以上のことから、新規に合成された哺乳動物由来の **PMP** はサイトゾルで **Pex19p** と結合した後、**Pex19p** による **Pex3p** との結合を介してペルオキシソームへ直接運ばれることを見出した。また、**Class I** 経路においては、**PMP** が **ATP** 非依存的に輸送されることも明らかにした。最後に、ミトコンドリアおよびペルオキシソームに両局在する **N-terminally** シグナルアンカータンパク質 **ATAD1** のペルオキシソームへの局在に着目し、**ATAD1** のペルオキシソームへの局在化機構およびペルオキシソーム局在化シグナルを明らかにした。本申請者はこれらの結果をもとに、哺乳類ペルオキシソーム膜タンパク質は、サイトゾルからペルオキシソームへ直接運ばれていること、そして **Pex19p** と **Pex3p** の結合がこの輸送システムに必須であることを示すことができた。従って、本研究の成果はペルオキシソーム生合成機構、とりわけ膜タンパク質の輸送メカニズム解明において価値ある業績と認められる。

よって、本研究者は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認められる。