

博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第40号

2016年3月

京都産業大学

は し が き

本号は、学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日 文部省令第 9 号）第 8 条の規定による公表を目的とし、平成 28 年 3 月 19 日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第 4 条第 1 項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第 2 項によるもの（いわゆる論文博士）である。

目 次

課程博士

1 . 小谷 友理	〔博士（生物工学）〕	1
2 . 森 勇伍	〔博士（生物工学）〕	5
3 . 吉田 亜佑美	〔博士（生物工学）〕	11
4 . <small>オントン パーワレッド</small> Ontong Pawared	〔博士（生物工学）〕	17
5 . 佐々木 大樹	〔博士（生物工学）〕	21
6 . <small>スントンスイット ジーラワット</small> Soonthornsit Jeerawat	〔博士（生物工学）〕	27

論文博士

1 . 上野 信洋	〔博士（生物工学）〕	31
-----------	------------	-------	----

氏名（本籍）	スンタンスイット ジーラワット Soonthornsit Jeerawat（タイ）
学位の種類	博士（生物工学）
学位記番号	甲工第25号
学位授与年月日	平成28年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	Analysis of the molecular mechanisms maintaining the higher order structure of the Golgi apparatus （ゴルジ体の高次構造を維持する分子機構の解析）
論文審査委員	主 査 中村 暢宏 教授 副 査 永田 和宏 教授 " 川根 公樹 教授

論文内容の要旨

ゴルジ体は膜に囲まれた細胞小器官であり、分泌経路の細胞小器官へのタンパク質や脂質の輸送に必須の役割を果たしている。ゴルジ体は分極した層板構造をもち、この構造は翻訳後修飾や積荷分子の分別配送に重要な役割を果たしていると考えられている。ゴルジ体の構造は高度に動的であり、管状や球状の輸送小胞の出入りのバランスの上で保たれている。これらの輸送小胞によって様々な積み荷分子がゴルジ体の層板を通して運ばれている。哺乳類細胞では、ゴルジ体層板が繋がって中心体付近でリボン状の構造を形成している。この構造は、タンパク質の極性輸送に重要であることが提唱されている。しかしながら、リボン状構造維持の機構はあまり理解されていない。本論文では、ゴルジ体リボン構造形成の分子機構を理解するために、二つのアプローチから研究を行った。一つ目は、低 pH 処理でのゴルジ体分散機構の解析であり、二つ目は、ゴルジ体に局在する複数回膜貫通タンパク質の機能解析である。

第1章では、一つ目のアプローチの研究結果を記した。低 pH の培地で処理すると、ゴルジ体のシス、中間、トランスのすべての槽が分散するが、全てのコンパートメントは分離したままであった。低 pH 処理開始後初期にはシスゴルジのマーカが管状構造物に観察されたが、中間及びトランスゴルジのマーカはこの構造物には観察されなかった。コントロール培地に戻すと、ゴルジ体の構造は完全に回復した。低 pH 処理は、ゴルジ体の構造だけでなく機能も変化させ、

VSV-G tsO45GFP タンパク質の正方向の輸送が有意に阻害された。ゴルジ体の分散はゴルジ体からの管状構造物形成に働く PLA₂ に対するアンタゴニストである ONO-RS-082 (ONO) と Bromoenol lactone (BEL) によって顕著に阻害された。また、輸送小胞の融合に働くと考えられている Rab1 の発現によっても阻害された。これらの結果は、低 pH 処理によるゴルジ体の分散が PLA₂ や Rab1 によって調節されていることを示唆している。

第 2 章では、二つ目のアプローチの研究結果を記した。これまでに、ゴルジ体に 5 回膜貫通タンパク質である YIPF が局在しており、ゴルジ体のリボン構造維持に関わっていることが示されている。本研究では、YIPF1, YIPF2 及び YIPF6 の局在と機能の解析を行った。これらのタンパク質は、主として中間、トランスゴルジ及び TGN に共局在しており、低 pH 処理によってこれらのコンパートメントのマーカーと共に局在変化した。YIPF6 の発現抑制は YIP1 と YIP2 の安定性に影響を及ぼした。驚くべきことに、YIP1, YIP2 あるいは YIP6 の発現抑制によって低 pH 処理による中間及びトランスゴルジの分散が抑制された。一方、YIPF1 あるいは YIPF2 の発現抑制によって糖タンパク質の合成が低下した。これらの結果は、YIPF1, YIPF2 及び YIPF6 が低 pH 処理による中間及びトランスゴルジの分散に関与していること、また、これらのタンパク質のバランスがゴルジ体での糖タンパク質合成に重要であることを示唆した。

以上のことから本論文は、低 pH 処理がゴルジ体の高次構造維持機構を解析する新しいツールとであることを提案し、さらに、低 pH 処理下で PLA₂, YIPF1, YIP2 及び YIPF6 がゴルジ体分散を引き起こすこと、また Rab1 がそれに拮抗することを示した。

論文審査結果の要旨

ゴルジ体は小胞輸送経路の中心に位置する細胞小器官であり、分泌タンパク質や膜タンパク質の修飾と選別配送を担っている。タンパク質の選別配送は、細胞の極性獲得や運動方向の決定に必須であり、ゴルジ体の形態変化は、分泌タンパク質や膜タンパク質の修飾や選別配送に大きな影響を与えることが明らかになりつつある。学位申請者は、このゴルジ体の形態維持と動態の分子機構を相互に関連する2つの戦略から研究した。本論文はこの研究成果をまとめたものであり、2章に分かれている。第1章(Chapter 1)では、細胞外 pH の変化によるゴルジ体分散の分子機構の解析について、第2章(Chapter 2)では、ゴルジ体に局在する複数回膜貫通タンパク質のゴルジ体の構造・機能への役割の解析についてまとめている。

本論文の最も注目すべき点は、ゴルジ体の構造やその動態が細胞外 pH の変化によって急速に変化することを発見したことである(第1章)。短時間(15分)の低 pH 処理によってゴルジ体が急速に解体分散することは、地味であるが誇るべき世界初の発見である。本論文では、さらにこのゴルジ体分散の分子機構にアプローチし、分散過程にホスホリパーゼ A2 が促進的に、Rab1 などのゴルジ体に局在する小型 G タンパク質が抑制的に働くことも明らかにしている。細胞外環境の pH の低下は、アシドーシスとも呼ばれ、細胞運動や増殖などで局所的に呼吸過多が起きた場合、生理的な状況下でも一過性に頻繁に生じる現象である。特にがん組織周辺においては、血流の不足からアシドーシスが生じることが報告されてる。従って、本研究の研究成果は、アシドーシス環境下での細胞の機能的変化を理解し、その制御法を開発する上で有用な新規知見である。

第2章では、ゴルジ体に局在する複数回膜貫通タンパク質群 YIPFs の機能解析の結果を報告している。YIPFs は、第1章でも取り扱った Rab1 などの小型 G タンパク質との相互作用が報告されているタンパク質群である。この章の新規な点は、YIPFs の中で未解析であった YIPF1, YIPF2, YIPF6 がともにゴルジ体のトランス側に局在することを明らかにしたこと、また、これらの遺伝子が、第1章でも取り扱った低 pH 処理で誘導されるゴルジ体の分散に促進的に働いていることが示唆されたことである。YIPFs の機能を明らかにするという点では未完成であるが、今後の研究の鍵となる重要な発見であり、第1章と合わせて、ゴルジ体の構造維持と動態を明らかにするという目的に対して、十分な研究成果を報告できているといえる。以上のことから、本論文は博士の学位授与に十分な質を備えていると判断された。

申請者に口頭諮問を行った結果、学位論文の内容について十分に考察されており、研究を主導的に行ったことが明確に認められた。さらに、本博士論文の第1章の内容は、所属研究室の研究者達との共同研究としてまとめられ、申請者を筆頭著者として国際的に著名な研究雑誌

Experimental Cell Research に 2014 年に受理，出版されており，これが参考論文として提出されている。加えて，同研究内容について，2014 年度には細胞生物学会でポスター発表を，また生化学会関西支部会で口頭発表を行っている。

予備審査において，一部の実験結果の定量性についての指摘や，図（写真）の追加，図の提示方法の工夫，文章の工夫についての軽微な修正が指示されたが，それらの点全てについて修正が施されていた。修正点を含めて本調査を行ったところ，博士の学位論文としてふさわしいものに仕上がっていることが確認された。以上の審査結果を踏まえ，主査 1 名，副査 2 名で合議した結果，本論文は，京都産業大学博士（生物工学）の学位授与にふさわしいものであると結論した。