

# 博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第52号

2023年9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、令和5年9月 16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. キム ゴウン  | [博士(法政策学)] ..... | 1 |
| 2. <small>ウエガキ</small> 上垣 <small>カイク</small> 日育  | [博士(生命科学)] ..... | 7 |
| 3. <small>フジイ</small> 藤井 <small>ショウヘイ</small> 唱平 | [博士(生命科学)] ..... | 9 |

|         |                                 |
|---------|---------------------------------|
| 氏名(本籍)  | 上垣 日育(奈良県)                      |
| 学位の種類   | 博士(生命科学)                        |
| 学位記番号   | 甲生 第6号                          |
| 学位授与年月日 | 令和5年9月16日                       |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当                    |
| 論文題目    | 小胞体ジスルフィド還元酵素 ERdj5 の還元メカニズムの解明 |
| 論文審査委員  | 主 査 潮 田 亮 准教授                   |
|         | 副 査 遠 藤 斗 志 也 客員教授              |
|         | // 本 橋 健 教授                     |

## 論文内容の要旨

リボソームから合成される約1/3の新生ポリペプチド鎖は、細胞小器官の一つである小胞体に挿入された後、分泌・膜タンパク質として成熟する。この成熟過程は小胞体に存在する様々な分子シャペロンや酸化還元酵素によるタンパク質品質管理によって支えられている。小胞体のタンパク質品質管理において、翻訳後修飾の一つであるジスルフィド結合形成はタンパク質が安定的な立体構造を獲得することや複合体を形成するうえで重要な要素である。そのため、小胞体でジスルフィド結合の形成過程を促進することは、小胞体のタンパク質フォールディングに対して有利に働くと考えられている。

小胞体はレドックス環境がサイトゾルと比較して酸化環境であり、ジスルフィド結合形成に適した場を構築している。さらに、小胞体は、リボソームから合成された新生ポリペプチド鎖のジスルフィド結合形成を効率的に促進するため、その酸化反応を触媒する PDI-Ero1 $\alpha$  複合体による酸化フォールディング機構がある。新生ポリペプチド鎖のジスルフィド結合形成に伴って生じる電子は、PDI に伝達され、PDI を介して Ero1 $\alpha$  へと伝達される。電子を受け取った Ero1 $\alpha$  は分子状酸素(O<sub>2</sub>)へ電子を放出し、活性酸素種の一つである過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)を産生する。この H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の過剰な産生は小胞体のレドックス環境を攪乱し、小胞体の恒常性破綻を引き起こす原因となる。一方、ERdj5 は酸化反応に適した環境である小胞体でジスルフィド還元酵素として機能し、小胞体関連分解や小胞体のカルシウムイオン調節機構において中心的な役割を果たす。しかし、どのように ERdj5 が酸化環境である小胞体内腔で電子(還元力)を獲得し、還元酵素として機能しているかは明らかにされておらず、小胞体への還元力

供給機構も未解明のままであった。そこで、ERdj5 の電子ドナータンパク質を同定することを研究の発端とし、小胞体への還元力供給機構を解明することを目的として研究を進めた。

本研究では、ERdj5の電子ドナータンパク質として小胞体酸化酵素Ero1 $\alpha$ を質量分析により同定し、Ero1 $\alpha$ がERdj5の還元酵素として働くことを明らかにした。また、ERdj5がEro1 $\alpha$ による新生ポリペプチド鎖の酸化的フォールディングから電子を奪うことで、過剰なH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>産生を抑え、小胞体の恒常性維持に寄与することも見出した。さらに、小胞体への還元力は新生ポリペプチド鎖の酸化的フォールディングから生じる電子から供給されることを明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

哺乳類細胞において、小胞体ジスルフィド還元酵素 ERdj5 が発見されて以来、酸化的なレドックス環境である小胞体において還元反応の重要性が明らかになったが、小胞体への還元力供給機構は未解明のままであった。

ERdj5 の活性中心に結合するタンパク質をクロスリンカー-DV5F によって安定的に結合させた結果、ERdj5 の電子ドナータンパク質として小胞体酸化酵素 Ero1 $\alpha$  を同定し、Ero1 $\alpha$  が ERdj5 の活性中心を還元することを見出した。ERdj5 は酸化酵素 Ero1 $\alpha$  を介して、小胞体に挿入された新生ポリペプチド鎖の酸化的フォールディングから電子を受け取り、自身の還元力とすることがわかった。また、NMR 解析により、ERdj5 の相互作用による Ero1 $\alpha$  の構造変化を見出しており、この構造変化が Ero1 $\alpha$  の電子伝達経路を変化させていることが示唆された。また、以前に報告された ERdj5 の2つの構造が、それぞれ2つの活性中心への電子供給をスイッチしていることを明らかにした。

この発見は酸化酵素 Ero1 $\alpha$  が小胞体内腔で還元酵素として機能することを見出しただけでなく、小胞体にリボソームの翻訳と共役した新規の還元力供給機構があることを意味している。この電子伝達経路は Ero1 $\alpha$  の酸化的フォールディングの副産物として生じる H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の産生を抑制し、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 依存的な小胞体ストレスの軽減にも貢献することが明らかとなり、小胞体における新たなレドックス恒常性制御機構があることを明らかにした。一連の研究によって、小胞体内腔への新たな電子伝達機構を見出しており、価値の高い研究内容であると判断できる。小胞体の恒常性維持機構の理解がより深まると期待され、当該研究分野に大きなインパクトを与えられられる。また、小胞体の恒常性破綻に起因する様々な疾患の発症機序の解明につながることも期待できる。

本研究に関する内容は、国際学術誌「Cell Reports」に掲載され、主査および副査から構成される博士論文調査委員による論文審査の結果、研究課題に新規性が認められること、作業仮説や実験方法に妥当性があること、結果の解釈や考察が適切に導かれていることから、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであると認められた。また、令和5年8月9日に開催された公聴会では、発表内容は論理的かつ明瞭にまとめられており、質疑応答に対して的確に回答されていた。よって、申請者は当該分野に関する学力において、博士の学位に相応しい資格を有していることが確認できた。

以上、本論文は博士(生命科学)の学位を授与されるに値するものと認められる。