

Title	Structure of the 20S proteasome from bovine liver at 2.75 Å resolution
Author(s)	海野, 昌喜
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/1223">https://hdl.handle.net/11094/1223</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	うん の まさ き 海 野 昌 喜
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 16788 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Structure of the 20S proteasome from bovine liver at 2.75 Å resolution (ウシ肝臓20S プロテアソームの2.75 Å分解能X線結晶構造解析)
論文審査委員	(主査) 教授 月原 富武  (副査) 教授 則末 尚志 助教授 中川 敦史 助教授 乗岡 茂巳

#### 論文内容の要旨

20S プロテアソームは26S プロテアソームの活性部位を形成する分子量約70万の超分子複合体である。20S プロテアソームの両端に PA700 と呼ばれる制御蛋白質群が可逆的に会合し、26S プロテアソームになる。26S プロテアソームは非リソソーム系で蛋白質分解を行う ATP 依存性プロテアーゼで、その役割は細胞内不用蛋白質の分解や、前駆体蛋白質のプロセッシング、細胞内の機能調節蛋白質の分解など多岐に渡っている。哺乳類などの高等動物の20S プロテアソームには、 $\alpha$ タイプサブユニットとして7種類、 $\beta$ タイプサブユニットとして10種類の遺伝子が同定されている。活性中心は酵母の20S プロテアソームと同様に $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ サブユニットにある。高等動物の20S プロテアソームには酵母にはみられない3つの追加的なサブユニットがあり、それぞれ、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ サブユニットと相同性が高く、 $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5i$ という名前が付いている。それらはサイトカインの一種であるインターフェロン $\gamma$  (IFN $\gamma$ )により誘導され、前三者と入れ替わる事が知られており、 $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5i$ を含んだ20S プロテアソームを免疫プロテアソームと呼ぶ。さらに、高等動物には酵母にみられるPA700の他にPA28と呼ばれる制御因子があり、それらが酵母等では見られないタイプの活性型プロテアソーム(フットボール型プロテアソームやハイブリッドプロテアソーム)を形成する。高等動物では、それらの様々なプロテアソームが協同的に、ウイルスなどの内在性抗原を効率的に分解し、免疫応答において重要な役割を担っている。

古細菌由来、酵母由来の20S プロテアソームの構造が1995年、1997年にそれぞれ Science と Nature 誌に報告されているが、高等動物の20S プロテアソームの構造と機能の複雑さを考えた場合、前二者の構造では高等動物細胞中のプロテアソームの機能を高度に制御する機構の解明には不十分であると考え、我々は哺乳類の20S プロテアソームのX線結晶構造解析を目指した。

一昨年(2002年)の10月に播磨の高輝度放射光施設 SPring-8 でウシ肝臓20S プロテアソームの一つの結晶から2.75 Å分解能の回折強度データを完全性96.3%、 $R_{merge}=9.5\%$ で収集することができ、構造解析に成功した。結晶構造解析された20S プロテアソームは完全に構成型(つまり $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5i$ サブユニットを全く含んでいないタイプ)であった。その構造から、以下のことが明らかになった。

1.  $\beta 7$ サブユニットが新規の活性部位になりうる。
2. 免疫型プロテアソームの構造を分子動力学等を用いて予測し、免疫型プロテアソームが免疫応答時に有利に働くことが確認できた。

3. 核移行シグナルの分子内での位置が分子表面にあった。
4. ウシの20S プロテアソームは酵母のそれよりサブユニット間の相互作用を少なくすることにより、構成型と免疫型のサブユニットの入れ替わりを有利にしていた。
5. 本来の活性部位は、進化的にも、分子内でも、高く保存されていた。

#### 論文審査の結果の要旨

海野君の論文は、蛋白質を7~13残基のペプチドに限定的に分解する酵素であるプロテアソームのX線結晶構造解析と機能及び構造構築機構に関するものである。この酵素は分子量が70万をこえる巨大な蛋白質複合体であり、細胞分化、免疫応答等において重要な役割を果たしている。その重要性から高等動物の酵素の構造が世界で強く求められていた。長年の試行錯誤の結果、ウシの肝臓から精製結晶化し、2.75 Å分解能のX線結晶構造解析に成功した。構造に基づいて新たな活性部位を見つけた。また、この酵素は14種のサブユニットのうち3種のサブユニットを別のものに置換することができる。その仕組みも解明した。この研究は、生理機能と深く結びついた蛋白質分解に関する研究の要石的研究として注目されている。よって、この論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。