

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 Md. Bytul Mokaddesur RAHMAN

論文題目 NMR analyses on recognition of the mitochondrial targeting signal by Tim50

Tim50 によるミトコンドリア移行シグナル認識機構の NMR 解析

論文審査担当者

主査	名古屋大学大学院理学研究科	教授	理学博士	遠藤斗志也
委員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	博士(工学)	田中健太郎
委員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士(理学)	中島洋

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

ミトコンドリアタンパク質の多くは核の DNA にコードされ、サイトゾルで前駆体タンパク質として合成された後、ミトコンドリア内に移行する。多くの前駆体タンパク質は N 端に“プレ配列”を持ち、そこに書き込まれたミトコンドリア移行シグナルに従って、外膜の TOM40 複合体と内膜の TIM23 複合体を介して内膜またはマトリクスに仕分けられる。Tim50 は TIM23 複合体のサブユニットで、プレ配列中のミトコンドリア移行シグナルを認識するプレ配列受容体である。酵母 Tim50 は、コアドメイン (164-361 残基) だけでなく C 端“プレ配列結合”ドメイン (PBD, 395-476 残基) がプレ配列に結合することが報告されているが、プレ配列がこれら二つのドメインにどのように認識されるのか、プレ配列認識がその後のプレ配列移行過程にどのようにつながるのかなどは不明であった。申請者は NMR (核磁気共鳴) を用いて、sPBD (PBD の一部) とプレ配列、コアドメインとの相互作用解析を行い、この問題に取り組んだ。

^{15}N 標識したモデルプレ配列ペプチドの NMR スペクトルを、Tim50 の sPBD がある場合とない場合で比較し、sPBD 結合部位を見出した。sPBD 結合部位は外膜の受容体ドメイン dTom20 に対する結合部位とほぼ同じであり、プレ配列は外膜において Tom20、内膜において Tim50 の sPBD により、よく似た認識を受けることが示された。次に Tim50 sPBD 上のプレ配列結合部位を明らかにするために、 ^{15}N 標識した Tim50 の sPBD の NMR スペクトルを、プレ配列ペプチドがある場合とない場合で測定した。その結果、sPBD 中には二つのプレ配列ペプチド結合領域があり、これら二つの領域が協力してプレ配列と相互作用するものと考えられた。プレ配列結合配列の様々な場所に変異を入れた sPBD 変異体を用いた解析結果も、このことを支持した。また NMR による、疎水性残基を親水性残基に置換した変異プレ配列ペプチドを用いた相互作用実験、様々な塩濃度における sPBD とプレ配列ペプチドの相互作用実験から、sPBD とプレ配列の相互作用の一部は疎水性相互作用であることが分かった。

次に進化的に保存されている Tim50 コア部分を ^{15}N 標識 Tim50 sPBD に加えて、NMR スペクトルを測定した。Tim50 sPBD のプレ配列結合部位の多くのシグナルが化学シフト変化とシグナル強度の変化を示し、Tim50 コアが sPBD 上のプレ配列結合部位に結合することが分かった。また、Tim50 コアをプレ配列存在下で ^{15}N 標識 Tim50 sPBD に加えたときの化学シフト変化のパターンは、プレ配列非存在下での化学シフト変化のパターンと異なっており、Tim50 コア、Tim50 sPBD、プレ配列の三者複合体が部分的に形成されることが分かった。これらの結果に基づいて Tim50 PBD と Tim50 コアによるプレ配列認識および両者の間でのプレ配列受け渡しのモデルを議論した。

以上の結果は、ミトコンドリアの内膜におけるプレ配列中の移行シグナル認識機構とプレ配列受け渡しに関する新たな知見を与えるものであり、タンパク質輸送におけるシグナル認識と輸送の分子機構の理解を深めるものである。よって申請者は博士 (理学) の学位を授与される資格があるものと認められる。