

## 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 宋 紀 瑶

論 文 題 目 Analysis of the outer membrane insertion mechanism  
of yeast mitochondrial proteins

(酵母ミトコンドリアタンパク質の外膜挿入機構の解析)

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教授	博士(薬学)	阿部 洋
委 員	京都産業大学総合生命科学部	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	医学博士	嘉村 巧
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	理学博士	本間 道夫

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

真核細胞においてエネルギー産生等を担う必須オルガネラであるミトコンドリアは、1000種類以上のタンパク質から構成されるが、その大部分は前駆体タンパク質としてサイトゾルで合成された後、ミトコンドリア内へと輸送される。ミトコンドリア膜上には前駆体タンパク質を取り込むための膜透過装置（トランスロケータ）が備わっている。これまでにマトリックス、内膜、膜間部のタンパク質、外膜の $\beta$ バレル型膜タンパク質の局在機構については詳しい解析が成されてきたが、外膜の $\alpha$ ヘリックス型膜タンパク質の局在・外膜挿入機構については不明な点が多かった。

出芽酵母の Om45 は $\alpha$ ヘリックスをつくって外膜に挿入される配列（TMD）を N 端側に持つ N アンカー型膜タンパク質であるが、その膜トポロジーについては疑問が出ていた。そこで Om45 の膜トポロジーを解析し、Om45 が膜間部側から外膜に挿入される新規トポロジーをとることを明らかにした。次にその局在経路を *in vitro* で解析、Om45 は外膜 TOM40 複合体のプレ配列受容体 Tom20 と Tom22 の認識を受けた後 TOM40 複合体の Tom40 チャンネルを通過すること、このとき内膜の膜電位と内膜のトランスロケータ TIM23 複合体が外膜通過の原動力を提供することを見出した。

次に Om45 のように膜間部側から外膜に挿入される N アンカー型膜タンパク質と Tom70 のようにサイトゾル側から外膜に挿入される N アンカー型膜タンパク質の局在経路の切り替え機構を *in vitro* で解析した。そして Tom70 の TMD も Om45 の TMD と同様、C 端側ドメインを Om45 経路に導くはたらきがあること、経路を切り替えるのは C 端側ドメインの性質であり、C 端側ドメインが安定な高次構造を形成すると Tom40 チャンネルを通過できずに、サイトゾル側から外膜に挿入されることを見出した。

Tom70 経路では、N アンカー型基質タンパク質の外膜透過が停止した後、Tom40 チャンネルの $\beta$ バレル構造が開いて外膜にラテラルに挿入されることが考えられるが、Tom40 チャンネルからの基質のラテラルリリースを支持する実験的証拠はない。そこでラテラルリリースの可能性を調べる基質として、C 端側に高次構造を安定化した DHFR ドメインを付加した Om45 または Tom70 の TMD との融合タンパク質をデザインし、TOM40 複合体を介さない非特異的外膜挿入を防ぐ工夫を施した。そして基質タンパク質が安定な C 端側ドメインの存在によって Tom40 チャンネル内で膜透過が停止したとき、外膜挿入可能な TMD がチャンネル内の適切な位置にあれば、基質は TOM40 複合体からラテラルリリースにより外膜に挿入されることを見出した。

以上の結果は、ミトコンドリアタンパク質の外膜挿入の新規経路を発見し、外膜挿入の二つの経路の仕分けの機構を解明し、これまで論争となっていた TOM40 複合体からのラテラルリリースを支持するものである。トランスロケータは進化的に良く保存されているので、これらの知見は酵母からヒトまで、ミトコンドリア生合成の分子機構の理解に大きく貢献するものである。以上の理由により、申請者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。