

論文審査の結果の要旨

氏名 廣田 耕志

G タンパク質と共役した 7 回膜貫通型受容体は広く真核細胞に存在し、外界の情報を細胞内に伝える重要な役割を担っている。しかしその分子生物学的解析にはなお未解明の部分が多く、出芽酵母と高等真核生物とでは解析結果に符合しない点も多い。学位申請者廣田耕志は、出芽酵母とともに優れたモデル生物として知られる分裂酵母において、7 回膜貫通型受容体のひとつである、接合フェロモン受容体の詳細な解析を試みた。

分裂酵母における接合因子シグナルの伝達は、接合の相手細胞の存在の認識に関わるとともに、接合体が行う減数分裂の開始にも必須である。接合に際して、 h^+ 型細胞は P 因子を放出し、それは h 型細胞の細胞表面に発現している受容体 Mam2 により受容される。同様に h 型細胞の放出する M 因子は h^+ 型細胞の Map3 により受容される。接合因子のシグナルは、受容体に共役している 3 量体 G タンパク質を介して MAP キナーゼ (MAPK) 経路に伝達され、下流の遺伝子の転写を誘導する。

接合因子 M-factor 受容体 Map3 の C 末端欠損変異受容体 Map3-dn9 は、接合を優性に阻害するが減数分裂の開始には影響しないものとして単離された。学位申請者は、*map3-dn9* 変異細胞では、接合因子に応答した遺伝子の転写誘導は見られるが、接合管の伸長が起こらないことを示した。しかしより詳細に観察を行ったところ、Map3-dn9 変異細胞では、接合因子による接合管伸長誘導は起こらないものの、細胞体積が全体的に増大していた。さらに、*gap1* は Ras1 の GTPase 活性化因子をコードし、*gap1* 破壊体は接合因子に対し超感受性となることが知られているが、*gap1* 破壊変異が加わると、*map3-dn9* 細胞は接合管伸長できるようになった。しかし、その際の接合管の伸長方向は接合相手の存在する方向とは無関係であった。学位申請者は以上から、*map3-dn9* 変異細胞では接合管の伸長そのものではなく、接合因子の濃度勾配に応じて接合管形成部位を決定する過程が阻害されていると結論した。さらに、接合条件下での Map3 および Map3-dn9 の局在を調べたところ、Map3 は接合開始時に接合管形成部位に集中して局在し、接合の進行とともに内在化し、分解された。一方、Map3-dn9 は、細胞膜上全域に存在し、内在化は見られなかった。したがって、Map3-dn9 が細胞全域に局在し

続けるために、接合相手に隣接する細胞表面部位に Map3 が一過的に集合する効果が打ち消され、接合因子に応答した接合管の極性が失われて接合不能となると推定された。

学位申請者は次いで、*map3-dn9* 高発現株の接合不能性を多コピーで抑圧する遺伝子をスクリーニングした。その結果、*ras1*、*byr1*、*scd1/rall* が得られた。これらの因子は Ras1 の関わるシグナル伝達経路上で働くものである。Byr1、Byr2 はそれぞれ MAPKK および MAPKKK であり、Ras1 の支配を受けて MAPK 経路へのシグナルを調節していることが知られている。この結果は、Map3-dn9 は MAPK 経路へのシグナルを正常に伝達できるという先の解析結果に一見矛盾する。そこで接合時の Byr1、Byr2、Scd1 の局在を調べたところ、それぞれ接合部位に局在していた。この局在は、Map3 に依存し、Map3-dn9 により阻害された。*ras1* は最も強く *map3-dn9* を抑圧したが、Ras1 の局在は Map3-dn9 の影響を受けず、常に細胞表面全域に存在した。そこで、Map3-dn9 は Ras1 の局在でなく、Ras1 の活性制御に影響を及ぼしていることが推測された。また、Ras1 を高発現した場合、Scd1 や Byr2 は増殖条件下でも細胞膜上に移行し、この Ras1 に依存した Scd1、Byr2 の膜への移行は Map3-dn9 に影響されなかった。

上記の観察結果から、学位申請者は以下のようなモデルを考案した。『野生型株において M 因子受容体 Map3 は、接合相手に隣接している細胞表面に集積し、この部位で Ras1 を活性化する。Ras1 は Scd1 や Byr2 などの因子を接合部位表面に引き寄せて活性化し、その部位から接合管を形成させる。*map3-dn9* 変異細胞では受容体が一点に集合できず、細胞表面全域の Ras1 を活性化し、本来接合部位に集積するべき Scd1 などの下流因子が膜上全域に分散するため、特定の方向の相手細胞と接合不能となる。』

以上、廣田耕志は分裂酵母の M 因子受容体を解析し、その C 末端がシグナルの伝達そのものではなく、受容体の細胞膜上で局在と内在化反応に重要な役割をもつことを明瞭に示した。この成果は、7 回膜貫通型受容体の分子機能の理解に対して重要な知見をもたらすものであり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は田仲加代子、渡辺嘉典、山本正幸との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、廣田耕志に博士（理学）の学位を授与できると認める。