

論文審査の結果の要旨

氏名 甲斐田大輔

本論文は2章からなり、第1章は、出芽酵母Msn2転写因子活性に影響を及ぼすPsr1/2脱リン酸化酵素について、第2章は、*whi2*株におけるSTREを介した遺伝子発現の欠損の原因について述べられている。

出芽酵母は高温、塩、栄養源枯渇などの様々なストレス条件下において、転写因子Msn2/4を介し、数多くのストレス遺伝子の発現を活性化する。この機構は、General stress responseと呼ばれている。Msn2はZinc-finger motifを持つ転写因子であり、ストレスがかかると細胞質から核に移行し、ストレス誘導性遺伝子のプロモータ領域にあるSTRE (stress response element)に結合することで、これらの遺伝子の転写を活性化する。*whi2*株では、Msn2が過剰にリン酸化され、Msn2による転写活性が低い。本論文では細胞膜に局在するPsr1/2脱リン酸化酵素がWhi2と複合体を形成し、Msn2の脱リン酸化に関与していることを明らかにした。General stress responseに脱リン酸化酵素が関与する初めての例である。また、定常期において*whi2*株の細胞が小さくなるのは、STREを介した遺伝子発現の活性化の遅れが一因であることを明らかにした。

第1章 Psr1/2によるMsn2転写活性化能の制御

Whi2と結合する因子としてPsr1が単離されており、また、Psr1とそのホモログPsr2は細胞膜に存在する脱リン酸化酵素であった。実際、免疫沈降実験により、Whi2とPsr1は共沈し、さらに、Whi2とMsn2も共沈した。*psr1 psr2*二重破壊株では、*whi2*株同様、Msn2が過剰にリン酸化され、STRE遺伝子発現レベルに欠損があった。さらに、これらの遺伝子発現レベルやストレス感受性は*whi2 psr1 psr2*三重破壊株でも同程度であったので、これらの因子は同じ経路で働いていると考えられた。*psr1 psr2*二重破壊株に野生型PSR1、脱リン酸化酵素活性部位に変異を導入した*psr1DE*、活性部位を除いた*psr1 ΔC*をそれぞれ導入し、Msn2のリン酸化レベル、STREを介した遺伝子発現のレベルを調べたところ、脱リン酸化酵素活性のない変異型*psr1*では、どちらの表現型も回復することは出来なかったことから、Msn2の脱リン酸化を介してSTRE遺伝子発現に関わっていると考えられた。

野生株は栄養源が枯渇すると、細胞増殖を停止し、ストレス耐性を獲得する。しかし、*whi2*株は栄養源が枯渇しても増殖を続け、小さな細胞となり、ストレ

スに感受性を示す。野生株はdiauxic shiftの間、約3時間、STRE遺伝子発現と細胞増殖を停止するが、*whi2*株では遺伝子発現が野生株と同レベルに到達するのが遅れ、停止している期間も短かった。このことから、*whi2*株ではSTRE遺伝子発現に欠損があることが、栄養源が枯渇しても細胞増殖を停止せず、小さな細胞になることの一因になっていると考えられる。

第2章 *whi2*株におけるSTRE遺伝子発現の欠損の原因

*whi2*株におけるMsn2の核移行について調べたところ、野生株と同様、Msn2は非ストレス条件下では細胞全体に存在し、ストレス条件下では核に局在していた。また、*whi2*株で見られるMsn2の過剰なリン酸化には、PKA、Srb10キナーゼは関与していなかったことから、未知のキナーゼの存在が予想された。

次に、転写活性化能性を検証するために、メディエーターコンプレックスの構成因子Rox3との結合能を調べた。沈降実験において、野生株ではMsn2とRox3がストレス条件下において共沈し、*whi2*株では共沈しなかったことから、Msn2の転写活性化に欠損があることが明らかになった。

なお、本論文第1章は、八代田英樹、東江昭夫、菊池淑子との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。