

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山神 撰

---

アルカン資化性酵母ではアルカンの初発酸化をチトクローム P450 アルカンモノオキシゲナーゼ (P450ALK)が触媒し、その発現は基質となるアルカンによって誘導されることが知られている。しかし細胞がアルカンの存在を感知し転写誘導に至るまでの過程は明らかにされていない。本論文の研究は、酵母 *Yarrowia lipolytica* においてアルカンという極めて疎水性の高い物質が P450ALK をコードする *ALK1* 遺伝子の転写を誘導する機構を明らかにし、疎水性物質に対する生物の応答機構についての知見を得ることを目的としたものであり、アルカンに応答した遺伝子の転写誘導に関わる複数の因子を同定し、酵母のアルカンへの応答機構に関して新たな知見を示したものである。本論文は、序章に続いて以下に概説する3つの章で構成される。

1 章では、*n*-デカン依存的な *ALK1* 遺伝子の発現に関与する因子として、*n*-デカン資化に必須なアセトアセチル-CoA チオラーゼ遺伝子を単離し解析した結果を述べている。*n*-デカン資化能欠損変異株の中から、*n*-デカンによる *ALK1* 遺伝子の転写誘導の活性が低下した株が選択され、変異を相補する *PAT1* 遺伝子が同定された。解析の結果 *PAT1* 遺伝子はペルオキシソームに局在する *n*-デカン代謝に必須なアセトアセチル-CoA チオラーゼをコードすると考えられた。また、*PAT1* 遺伝子は *n*-デカンによって発現が誘導されることから、*n*-デカンによる転写誘導機構の新たな研究材料確保にも成功している。*Pat1p* はβ酸化系の最終反応を触媒することにより *n*-デカン代謝に関与していると考えられるが、そのような *n*-デカン代謝の下流に働く酵素の異常によって *n*-デカンの初発酸化反応を担い代謝系の上流に位置する *ALK1* の発現量が抑制されるという、新たな制御機構の存在が示唆された。

2 章では、1 章で得られた *PAT1* 遺伝子が *ALK1* 遺伝子と同様に *n*-デカンによって転写誘導されるという結果を踏まえ、*ALK1* プロモーターと *PAT1* プロモーターの配列を比較した結果、アルカンに応答して転写を誘導する活性を有するエレメント ARE1 が同定された。

3 章では、ARE1 を介したアルカンに応答した転写誘導の見られない変異株をスクリーニングするための系を確立し、目的とする変異株の取得に成功している。変異株の解析から、アルカンによる P450 遺伝子の転写誘導に必須な遺伝子 *YAS1* (yeast alkane signaling)が同定された。*Yas1p* の推定アミノ酸配列から、basic helix-loop-helix (bHLH)モチーフが見出され、また、HA タグを付加した *Yas1p* (*Yas1p*-HA)が核に局在化し、ARE1 を持つプロモーターに結合することを明らかにされた。ARE1 には bHLH 転写因子の結合配列である E-box モチーフ(CANNTG)が含まれ、*Yas1p* は ARE1 に結合してアルカン応答に機能する転写活性化因子であることが示唆された。さらに、*YAS1* の発現もアルカンによって誘導され、*YAS1* のプロモーターに *Yas1p*-HA が結合することを見出し、アルカン応答に関わる正の転写因子の発現が自身によって制御されるフィードバック調節機構の存在をも示唆している。

以上、本論文はアルカンという極めて疎水性の高い物質が遺伝子の転写を誘導する機構について新たな知見を与えており、広く疎水性物質に対する生物の応答機構に関しても新たな知見と今後の研究への展望を与えるものであり、学術上、及び応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。