

# 論文審査の結果の要旨

氏名 荒木智之

本論文は2章からなるが、第1章の前にイントロダクションがあり、そこでは本研究の背景となる麻酔剤の作用機作の研究の歴史とモデル生物を用いた麻酔剤の作用機構に関する知見がまとめられていると共に本研究の目的が示されている。

第1章では局部麻酔剤テトラカインに超感受性を示す突然変異体の一つ *las24* 変異体の性格付けを行っている。この変異体はテトラカイン超感受性を示すと同時に温度感受性増殖を示す。温度感受性を指標にして原因遺伝子をクローニングした。その塩基配列から *LAS24* は *KOG1* と同一遺伝子であることが後に分かった。Kog1 蛋白質はラパマイシンの標的である TOR 複合体の構成因子として同定されたので、以後 *las24* 変異体を用いて TOR 機能を解析した。TOR は2種類の複合体 TORC1 と TORC2 からなり、Las24 は前者に特異的な蛋白質であり、これに特異的な変異は現在のところ *las24* 変異しか知られていない。*las24* 変異を用いた実験から TORC1 特異的な制御を調べることができた。例えば、*las24* 変異株を用いることで TORC1 機能がアクチンの正常な極性維持に関与していないかどうかを明らかにすることができると考え、解析を行った。*las24* 株のアクチン骨格は許容温度においては野生型と同様、正常な極性を持っていたが、制限温度においてはそれが失われた。このことから、Las24 はアクチン骨格の形成と維持に必須の蛋白質であることが明らかとなり、TOR モデルに新しい経路を示すことができた。

第2章では、テトラカインが TOR 経路に与える影響について調べることで、テトラカインの作用機序を明らかにしようと試みた。テトラカインはラパマイシンの場合と同様、濃度依存的に翻訳の開始を停止させると共にアクチンの極性を失わせた。またその効果は、*las24* 株において、その程度は野生型に比べ、より顕著であった。しかしその一方、TOR の下流の因子として知られる Npr1p、Gln3p のリン酸化には影響を与えなかった。またテトラカインは、TOR 及び Ras/cAMP 経路依存的に局剤が調節されることが知られているストレス応答性転写活性化因子 Msn2 の核移行も引き起こした。これらのことは、テトラカインの標的が TOR ではないことを示唆する一方、TOR 経路の下流の幾つか

を制御する未知の因子が存在することを示唆している。また、これらのことはテトラカインの毒性を指摘するとともに、この薬剤が麻酔剤としてのみならず、未知の反応経路を解明し、理解するための新たな分子ツールとしても利用できる可能性があることを指摘している。

さらに、テトラカインが持つ翻訳開始阻害剤としての性質を調べた。テトラカインは既知の翻訳開始阻害剤（ラパマインなど）に比べ、非常に強く翻訳開始を阻害することを明らかにした。出芽酵母において翻訳開始の阻害因子、あるいは mRNA 分解関連因子の破壊株は、翻訳の開始を停止させるストレスに対して耐性となることが明らかになっている。これら既知のシステムがテトラカインの耐性についても関与するかどうかを調べた。出芽酵母は翻訳開始の阻害因子を破壊することにより、テトラカインによる翻訳開始の阻害効果を軽減できた。また、mRNA の分解酵素を破壊することによっても同様の効果が得られた。また、これらの破壊株は、野生型が増殖できない高濃度のテトラカイン存在下でも増殖できた。これらの結果は、テトラカインの細胞増殖阻害効果は翻訳開始停止がその主な原因であることを示唆した。

なお、本論文の第 1 章は上園幸史、小口智子、および東江昭夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって行われたもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。