

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 谷川 美頼

細胞は絶えず変化する環境に適応し生き抜くための多様な適応応答機構を備えている。外界からの刺激は、その刺激に対するセンサーを活性化させ、細胞内へ情報を伝達し、適切な応答反応を引き起こす。本論文は、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のストレス応答について解析したものである。第一章では、WASP ホモログである Las17p の解析からストレス時のアクチン骨格制御について考察し、第二章では、Las17p とストレス応答性 MAPK 経路の構成因子 Sho1p との結合解析から、MAPK 経路の特異性の保持機構について考察している。

第一章では浸透圧ストレス依存的な Las17p のリン酸化について述べている。酵母は、高浸透圧、低浸透圧、過酸化水素、熱などの刺激を受けると、アクチンが脱局在する。しかし、実際にどのような分子メカニズムで脱局在が引き起こされるのか、またその生理的な意義については不明であった。そこで本論文では、アクチン重合を制御する分子、Las17p のストレス時の振る舞いを解析することでアクチン骨格制御についての知見を得ることを試みている。Las17p は *S. cerevisiae* における唯一の WASP ホモログで、WASP と同様にアクチン重合の核となる分子 Arp2/3 複合体を活性化してアクチン重合を活性化する分子である。まず、Las17p がストレス依存的にリン酸化されることを見出している。そして、そのリン酸化は GSK-3 が担うことを明らかにしている。GSK-3 は、進化的に広く保存されたプロテインキナーゼで、様々な分子をリン酸化し、多くの経路を制御していることが知られている。*in vitro* キナーゼアッセイを行い、Las17p が GSK-3 によって実際にリン酸化されることを示している。この実験において、浸透圧刺激の有無で GSK-3 のキナーゼ活性に影響はなかったが、浸透圧刺激に依存して Las17p が GSK-3 以外のキナーゼにより予めリン酸化されることにより、GSK-3 によるリン酸化効率が上昇することを報告している。この実験から Las17p が未知のキナーゼによりリン酸化され、それが引き金となり GSK-3 のリン酸化を引き起こすという機構について論じている。

さらに、浸透圧刺激は極性成長部から Las17p の脱局在を引き起こすという現象について、Las17p の脱局在が *gsk-3* 破壊株では観察されないことから、Las17p のリン酸化が Las17p の脱局在を引き起こしている可能性について論じている。

浸透圧刺激後、直ちに Las17p の脱局在が観察されるのに対して、アクチンの脱局在はそれよりもかなり遅れて起こることから、アクチンの脱局在は、Las17p のようなアクチン重合を制御する分子の脱局在によって引き起こされる可能性について検討している。本論文では *gsk-3Δ* 株のアクチンを観察し、アクチンの脱局在は野生株よりも遅れて起こることを述べている。この結果から、GSK-3 が Las17p のリン酸化を介して浸透圧ストレス下でのアクチン骨格制御に関与している可能性について考察している。

第二章では、浸透圧応答における Las17p の Sho1p 制御機構について述べている。膜タンパク質 Sho1p は二つの MAPK 経路の構成因子である。一つは高浸透圧によって活性化される HOG 経路で、もう一つは栄養源飢餓によって活性化される擬菌糸形成経路である。どちらの経路においても Sho1p は遺伝学的に最上流に位置しており、センサーの一部であると考えられている。本論文ではホルマリンを用いた *in vivo* クロスリンク法により、生理的な条件下でのタンパク質間結合を検出する技術を確立し、これにより、Sho1p が Pbs2p のみならず、Las17p とともに浸透圧刺激依存的に結合することを明らかにしている。さらに Sho1p と Las17p の結合は、Sho1p と Pbs2p の結合と比較して、刺激後より早い時間の一過的なものであることを報告している。また、Las17p 上の Sho1p との結合が予想された配列の Pro314 に変異を導入した Las17 (P314A)p 変異体は Sho1p と結合できないことを示している。続いて、*las17(P314A)* 変異株の HOG 経路に与える影響を検討し、この変異株では、刺激直後に野生株より強く Hog1p がリン酸化されることについて報告している。さらに *las17(P314A)* 変異の擬菌糸形成経路への影響も検討し、変異株では浸透圧刺激によって擬菌糸形成経路の MAPK Kss1p が活性化されることを述べている。これらの結果を受けて、考察では Las17p が Sho1p に結合し、刺激直後の Sho1p を不活性化することで擬菌糸形成経路へのクロストークを抑制する機構について論じている。

以上、本論文は、酵母の浸透圧ストレス応答の新しい分子機構を明らかにしたもので、学術上、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のあるものと認めた。