

審査の結果の要旨

氏名 石川 公輔

本研究は真核生物の増殖機構において重要な役割を演じていると考えられてきた GTP 結合蛋白質 Drg1 と Drg2 より成る DRG ファミリーの生理機能を明らかにするため、結合蛋白質の探索を行い、同定された因子との機能の協同作用を出芽酵母系の増殖解析にて行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. Drg1 と Drg2 にそれぞれ特異的に結合する Dfrp1 と Dfrp2 を同定した。Dfrp1 と Dfrp2 は約 60 アミノ酸の領域に相同性を持つが、他の領域に相同性は無い。細胞を用いた免疫沈降による実験から、Drg1 と Dfrp1、Drg2 と Dfrp2 がそれぞれ独立した複合体を形成していることが明らかとなった。
2. Drg1、Drg2 の単独のタンパク発現が抑制される現象がこれまで見出されていたが、それぞれ Dfrp1、Dfrp2 との共発現によってタンパク発現が安定化することが新たに見出された。これはさらに HeLaS3 細胞における Dfrp1 と Dfrp2 のノックダウン解析によっても確認された。また、Drg2 のノックダウン解析によって、Dfrp2 が逆に Drg2 に安定化されていることも見出し、Drg2 と Dfrp2 複合体はお互いに安定化しあっている因子であることが示された。Dfrp1 と Dfrp2 における DRG ファミリーの結合相手との結合必須領域を同定し、それぞれ Dfrp1 ノックアウト、Dfrp2 ノックアウトにその必須領域の欠損変異体をレスキューさせる実験により、Dfrp1 による Drg1 の、Dfrp2 による Drg2 の安定化効果は結合を介している制御である可能性が示された。
3. Dfrp2 に存在する RWD ドメインを手がかりに、アミノ酸飢餓後の細胞の増殖メカニズムである GCN 経路へ制御を予想した。出芽酵母を用いて、Dfrp2 が RWD ドメインを介して Gcn1 と結合し、Gcn2 を阻害することが示された。また、Drg2 は Dfrp2 の活性を促進することが示された。
4. 出芽酵母において、強度の高い Gen2 活性化状態の元では、Dfrp2 の抑制機能が細胞の増殖に有利に働くことが示唆された。

以上、本研究は Drg1/Dfrp1 複合体と Drg2/Dfrp2 複合体の安定な 2 つの高度保存制御因子群の存在を明らかにした。また本研究はアミノ酸飢餓ストレスの細胞増殖に与える影響を制御するメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。