

# 論文審査の結果の要旨

氏名 大坪 瑤子

TORは真核生物に広く保存されたセリン/スレオニンキナーゼで、栄養源などの細胞外界の環境の変化に応じて、細胞の成長・増殖に関わる様々な機構を調節している。ほ乳類、出芽酵母では、TORは2種類の複合体、TORC1、TORC2を形成している。ほ乳類では、Raptor、mLST8、mTORからmTORC1複合体が、Rictor、mSIN1、PRR5 (Protor)、mLST8、mTORからmTORC2複合体が形成され、それぞれ異なる下流の因子にシグナルを伝達することが報告されている。

学位申請者が本研究で用いた分裂酵母は、栄養源が豊富な培地では分裂で増殖する。栄養源が枯渇すると細胞周期をG1期で停止し、接合、減数分裂、胞子形成という有性生殖過程へと移行する。分裂酵母には、二種類のTORタンパク質Tor1pおよびTor2pが存在する。Tor1pを欠く細胞は、栄養源が枯渇してもG1期停止できず有性生殖不能である。またストレス条件下での生育にも欠損が生じる。一方Tor2pを欠くと生育できない。共同研究者により作製されたTor2pの温度感受性株は、富栄養条件下でも制限温度ではG1期で停止し、接合を開始した。また、所属研究室の先行研究で、mTORC1複合体構成因子RaptorのホモログであるMip1pが単離されていた。

以上の背景のもとに、申請者はMip1pの温度感受性株を新たに作製し、*tor2*温度感受性株と同様の表現型を示すことを明らかにした。さらに、Mip1p、RictorホモログのSte20p、mSIN1ホモログのSin1p、mLST8ホモログのWat1pの4因子について、Tor1pおよびTor2pとの相互作用を調べた。その結果、Mip1pは主にTor2pと、Ste20pとSin1pは主にTor1pと、Wat1pはTor1p、Tor2p両方と結合していることが明らかとなった。*ste20*破壊株と*tor1*破壊株が非常に類似した表現型を示すことも示された。以上の結果から、申請者は分裂酵母においてもTORC1、TORC2の2つの複合体が存在すること、G1期停止から有性生殖を開始する制御において、TORC2 (Tor1p)は正に、TORC1 (Tor2p)は負に働いていることを明らかにした。

有性生殖に対するTor1pとTor2pの機能の違いを構造的に探るために、申請者はTor1pとTor2pのN末側HEATリピート部位を入れ替えたキメラタンパク質と、Tor1pと

Tor2p のキナーゼドメインを含む C 末側を入れ替えたキメラタンパク質をつくり、*tor2* 温度感受性株および *tor1* 破壊株の相補を調べた。その結果、N 末側 HEAT リピート部位が Tor1p あるいは Tor2p として機能するために重要であると結論した。

申請者はさらに、Tor2p 経路上の新規因子を単離することを目的として、いくつかのスクリーニングを行った。異なる機能が損われていると予想される、HEAT リピート部位に変異が入った *tor2* 温度感受性株とキナーゼドメインに変異が入った *tor2* 温度感受性株を使い、それぞれ高温感受性を抑圧する因子のスクリーニングを行った。前者から TORC 複合体構成因子の Wat1p が得られ、後者からは新規の因子 Spr1p が単離された。Spr1p と Tor2p 経路の関係について詳細に検討した結果、それらがミトコンドリアの機能とつながりがある可能性が示された。

申請者は、共同研究者が単離した *tor2* 温度感受性株と同様な表現型を示す変異株の原因遺伝子を広範にクローニングした。その結果、それらはアミノアシル tRNA 合成酵素、tRNA の修飾酵素、RNA polymerase III サブユニットなど、tRNA と関係した因子をコードすることが判明した。さらに、Wat1p を使ったツーハイブリッドスクリーニングから、翻訳伸長因子 eEF1 の構成因子である eEF1a が単離された。eEF1a の破壊株も *tor2* 温度感受性株と同様の表現型を示した。また、アミノアシル tRNA 合成酵素や eEF1 の構成因子が Tor2p と相互作用することもわかった。これらの結果から、tRNA や翻訳機構が有性生殖開始の制御と関わっている可能性が示唆された。

以上、大坪瑤子は本研究において、分裂酵母の TOR キナーゼの基本的な性格付けを完了し、有性生殖に対する 2 種の TOR 複合体の対照的な役割を明らかにした。また TOR 経路とミトコンドリア、あるいは tRNA や翻訳機構との関わりを示唆する先駆的な結果を得ている。これらの研究成果は、細胞が外界条件に応答する際に TOR キナーゼが果たす機能の解明に向けて重要な寄与をなすものであり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は松尾朋彦、Jun Urano、玉野井冬彦、山本正幸との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、大坪瑤子に博士（理学）の学位を授与できると認める。