

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Swapan Kumar Paul
審査委員	主査 川向 誠 (印) 副査 中川 強 (印) 副査 松下 一信 (印) 副査 戒能 智宏 (印) 副査 山野 好章 (印)
題目	分裂酵母の有性生殖を制御する Moc に相互作用するタンパク質の分子遺伝学的解析
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>分裂酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i> は体細胞分裂と減数分裂間の決定メカニズムを研究するのに優れたモデル生物である。減数分裂および体細胞分裂は互いに排他的なプログラムで、酵母では有性生殖は栄養源飢餓をきっかけに起こる。分裂酵母の有性生殖は主要な栄養源認識経路により制御される。分裂酵母では一連の分子現象を cAMP 経路が担っている。細胞の cAMP レベルは生合成酵素(アデニル酸シクラーゼ)の相対活性と分解酵素(ホスホジエステラーゼ)に依存している。 <i>cyr1</i> 遺伝子にコードされたアデニル酸シクラーゼは cAMP を ATP から生成し、3量体 G タンパク質 (Gpa2, Git5, Git11) は Git3 レセプターの栄養源認識機構を通してアデニル酸シクラーゼの活性をコントロールしている。アデニル酸シクラーゼ結合タンパク質 (Cap1) は <i>Cyr1</i> 制御に関係している。cAMP 分解酵素 Pde1 (ホスホジエステラーゼ) は cAMP を AMP に変換する。このように、細胞内 cAMP 濃度が Ste11 の誘導を通して体細胞分裂と減数分裂の切り替えに重要な役割を果たしている。</p> <p>本論文で著者は分裂酵母の有性生殖を制御する新規の Moc タンパク質複合体および Moc 相互作用タンパク質に焦点を当てている。 <i>moc</i> (multicopy suppressor of over-expressed <i>cyr1</i>) 遺伝子 (<i>moc1-4</i>) は cAMP の上昇により分裂酵母の不稔性表現型をバイパスすることで単離された。Moc 1 は M 期進行のレギュレーターの可能性がある因子として単離され、減数分裂に関係し、2A 型ホスファターゼ (PP2A) のインヒビターとして安定な複合体をなす。加えて Moc 1 はタンパク質-タンパク質間相互作用に関わる 2 つの CBS ドメイン (cystathionine-<math>\beta</math>-synthase) を含む。一般的な翻訳制御因子であり、RNA ヘリカーゼとして働く Moc2 (Ded1) は有性生殖過程と細胞成長のどちらにも関係している。新規の核に局在する Zn フィンガー型タンパク質 Moc 3 は有性生殖過程、子嚢形成、ストレス応答に関係する。mRNA に結合し不安定化誘導するタンパク質である Moc4 (Zfs1) は有性生殖過程と細胞壁形成に関与する。すべての Moc タンパク質は異なる強度で分裂酵母の有性生殖過程を誘導する。</p>	

Moc1, Moc2, Moc3 および Moc4 タンパク間の相互作用の可能性を調べるため、始めに yeast two-hybrid 法を用いて個々の Moc 相互作用タンパク質をスクリーニングし、他の Moc タンパク質との相互作用を確認した。このスクリーニング過程で Cpc2 および Rpl32-2 は Moc 複合体タンパク質との相互作用に関係する因子として浮び上がった。Cpc2 は Moc1, Moc2 および Moc3 と相互作用し、一方でリボソームタンパク質 Rpl32-2 は two-hybrid 法においてすべての Moc タンパク質と相互作用した。Cpc2 と Moc1, Moc2 および Rpl32-2, Moc1 と Moc2, Rpl32-2 と Moc2 との物理的相互作用は共免疫沈降法で検証した。加えて、それぞれの Moc タンパク質は巨大な複合体として存在することを Blue Native PAGE の結果により著者は明らかにした。Moc1, Moc2, Moc3, Moc4 および Rpl32-2 の過剰発現は結果的に鍵転写因子 Ste11 を直接に誘導し、分析したすべてのタンパク質は Ste11 の正の制御因子であることを示唆した。Moc2/Ded1 は一般的な翻訳因子であり、Cpc2 は Rpl32-2 を含む多くのリボソームタンパク質と関係することを考慮に入れると、この研究で発見した、Moc で構成された巨大複合体は Ste11 の誘導を通して分裂酵母の有性生殖過程のコントロールに関与する翻訳制御因子として機能する可能性が示唆された。

さらに著者は Moc3 との相互作用因子としてミトコンドリアグルタミル tRNA 合成酵素 (mGluRS) をコードする *ers2* と名付けた新規の遺伝子を yeast two-hybrid 法により単離した。細胞質型グルタミル tRNA 合成酵素 (cGluRS) が yeast two-hybrid 法において Moc3 とも相互作用した。*ers1* (cGluRS) と *ers2* (mGluRS) の破壊株ではこれらの遺伝子がともに分裂酵母の細胞成長に必須であることが示された。興味深いことに *ers2* は細胞成長と生育力の低下に大きく影響するが、過剰発現させると分裂酵母の有性生殖を誘導した。*ers1* の過剰発現もまた分裂酵母の有性生殖を誘導した。これらの観察から、有性生殖における様々なアミノ酸の影響を検証することを考えた。著者はトリプトファン、メチオニン、スレオニンのような特定のアミノ酸と同じくグルタミン酸が効率的に分裂酵母の有性生殖を誘導することを発見した。これらの発見は GluRS とグルタミン酸が分裂酵母での有性生殖に関与する新しい制御メカニズムがあることを示唆している。

本論文では著者は鍵転写因子 Ste11 の活性化を通して分裂酵母の有性生殖をコントロールする翻訳制御に関与する Moc タンパク質に媒介された巨大複合体、リボソーム結合タンパク質 Cpc2 および、リボソームタンパク質 Rpl32-2 を同定した。著者はまた、Moc3 相互作用タンパク質である GluRS および、グルタミン酸が分裂酵母の有性生殖に関与する新規の制御メカニズムが存在することを提唱している。

以上の結果は分裂酵母の有性生殖の制御を新たな翻訳調節複合体の存在を示した優れた研究成果であり、本論文は博士（農学）の学位論文に値すると認められる。