

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主論文の要旨

論文題目 分裂酵母経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリー遺伝子の解析

氏名 島崎 嵩史

## 論文内容の要旨

本研究では細胞の寿命制御・老化メカニズムを理解することを目的に、分裂酵母の寿命延長因子である Ecl1 ファミリー遺伝子の解析を行った。Ecl1 ファミリー遺伝子 (*ec11+*、*ec12+*、*ec13+*) は当研究室で発見された遺伝子であり、分裂酵母の細胞内に高発現することで細胞の経時寿命が延長する。しかしながら、Ecl1 ファミリー遺伝子の具体的な寿命延長メカニズムやタンパク質の機能は不明であり、これらを明らかにするために主に以下の2つの観点から解析を行った。

### ① *ec11+* と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ストレスとの関係

分裂酵母に *ec11+* を高発現すると経時寿命の延長効果に加えて、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ストレスに対して耐性になることを見出した。さらに、*ec11+* を欠損させると H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ストレスに対して感受性を示すことを見出した。そこで H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による *ec11+*-mRNA の変化を調べたところ、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が *ec11+*-mRNA の転写を誘導することが明らかとなった。この転写誘導機構について詳細に解析したところ、ストレス応答情報伝達に重要な Sty1 Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) 経路により制御されることを見出した。加えて、クロマチン免疫沈降法 (ChIP assay) を用いた解析から、Sty1 の下流で働く転写因子 Atf1 が *ec11+* の上流に直接結合して転写制御することを明らかにした。

### ② Ecl1 ファミリータンパク質に保存されたアミノ酸に関する解析

Ecl1 ファミリータンパク質のアミノ酸配列は互いに類似しているが、中でも4つのシステインがタンパク質の N 末端に共通して保存されている。そこでこれら4つのシステインの機能を解析するために、それぞれをセリンに置換した4種類の変異型 Ecl1 タンパク質を作製して、これらの変異が Ecl1 タンパク質の機能に与える影響を調べた。その結果、野生型の Ecl1 タンパク質を高発現した際に見られた経時寿命の延長がいずれの変異型 Ecl1 タンパク質の高発現株においても見られなかった。この結果から、これら4つのシステイン全てが Ecl1 タンパク質の機能発現に必須であること

が明らかとなった。

さらにこれら4つのシステインを含むドメインが亜鉛の結合ドメインに類似することを見出したので、野生型および変異型 **Ecl1** タンパク質の N 末端に GST タグを融合した組換えタンパク質を作製・精製し、誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-AES) によって亜鉛の結合の有無を解析した。解析の結果、野生型 **Ecl1** タンパク質には亜鉛の結合が確認されたが、変異型 **Ecl1** タンパク質には亜鉛の結合が確認されなかった。これらの結果から **Ecl1** タンパク質は亜鉛結合タンパク質であり、その結合には保存されているシステインが重要であることが明らかになった。

当研究室の解析から、**Ecl1** ファミリー遺伝子の高発現は分裂酵母に寿命延長や酸化ストレス耐性を付与するだけでなく有性生殖も促進すること、**Ecl1** ファミリー遺伝子は微量金属の欠乏に応答して誘導される有性生殖過程に重要な役割を果たすことなどが明らかになってきた。これらの結果から **Ecl1** ファミリータンパク質と金属応答に関連性が伺えたので、寿命に与える金属の影響を解析した。その結果、分裂酵母の経時寿命は生育環境中の亜鉛の枯渇によって大きく延長することを見出した。さらに **Ecl1.2.3** 三重欠損変異株においては亜鉛枯渇による寿命延長が大きく抑制されたことから、亜鉛枯渇による寿命延長は **Ecl1** ファミリータンパク質に依存することが明らかになった。

以上、本研究により分裂酵母の経時寿命延長因子 **Ecl1** ならびにそのファミリーについて、発現調節機構、タンパク質の構造-機能相関、ならびに生理学的役割に関する理解が進展した。