

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 島 崎 嵩 史

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

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	饗 場	浩 文
委 員	名古屋大学教授	人 見	清 隆
委 員	名古屋大学助教	大 塚	北 斗

論文審査の結果の要旨

島崎嵩史は細胞の寿命制御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 ファミリーの解析を行った。Ecl1 ファミリー遺伝子 (*ec11⁺*、*ec12⁺*、*ec13⁺*) は分裂酵母の細胞内に高発現することで細胞の経時寿命を延長させるものとして同定されたが、そ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った。そこで、*ec11⁺* 遺伝子発現に関わるシグナル伝達機構、ならびに Ecl1 タンパク質の構造-機能相関の観点から解析を行い以下に示した研究成果をとりまとめて博士学位論文を作成・提出した。

ec11⁺ と H₂O₂ ストレスとの関係を解明した

島崎嵩史は、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、H₂O₂ 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 H₂O₂ ストレスに対して感受性を示すことも見出した。そこで H₂O₂ による *ec11⁺*-mRNA の変化を調べたところ、H₂O₂ 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。本研究により、*ec11⁺* の H₂O₂ ストレスに応答した遺伝子発現機構が明らかになった。

Ecl1 ファミリータンパク質に保存されたアミノ酸の機能を解明した

Ecl1 ファミリー遺伝子は、経時寿命延長因子として同定した当初は、公開遺伝子情報データベースでは遺伝子として認識されておらず、未同定の遺伝子であった。その後、80 アミノ酸程度の小タンパク質をコードすることが示されたものの、そのタンパク質の構造と機能に関する情報はなかった。島崎嵩史は Ecl1 ファミリータンパク質間でアミノ酸配列が互いに類似しており、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ことに着目した。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 タンパク質を複製して、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る経時寿命の延長効果、および性分化誘導効果ともに、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くなることを観察した。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を示した。

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、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が結合するものの、変異型 Ecl1 タンパク質には亜鉛が結合しないことを見出した。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を明らかにした。

島崎嵩史の所属する研究室では、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りつつあった。そこで Ecl1 ファミリータンパク質と金属応答の関連性に着目して、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を明らかにした。寿命延長に関与するシグナルとしては、カロリー制限がよく知られていたが、本研究から亜鉛の欠乏が細胞寿命延長のシグナルとなる可能性が示唆された。今後その機構と普遍性の解明が期待される。

以上、島崎嵩史は、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成果を得て当該分野の進展に貢献した。これらの成果を踏まえ審査委員会は本論文の内容が博士（創薬科学）の学位論文として十分に価値あるものと認め、論文審査に合格と判定した。