



TITLE:

低グルコース濃度下での分裂酵母の生育に関わるタンパク質キナーゼとホスファターゼの同定と機能の探求(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

羽生, 雄一郎

CITATION:

羽生, 雄一郎. 低グルコース濃度下での分裂酵母の生育に関わるタンパク質キナーゼとホスファターゼの同定と機能の探求. 京都大学, 2009, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2009-05-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/126581>

RIGHT:

(論文内容の要旨)

グルコースは、エネルギー源、炭素源として生物にとって極めて重要である。細胞は、内外のグルコース量を把握して効率的に利用し、枯渇すればそれに対処するための仕組みを備えていると考えられる。しかし、その制御機構については理解の端緒に立ったところである。本研究では、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* が低グルコース濃度下で生育するために、CaMKK (Ca²⁺/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼキナーゼ) 様キナーゼ Ssp1、および PP2A (2A 型タンパク質ホスファターゼ) 様ホスファターゼ Ppe1 の阻害因子 Sds23 が必要であることを発見した。温度感受性 *ssp1* 変異株および Δ *sds23* 遺伝子破壊株を高グルコース濃度培地から低グルコース濃度培地へ移すと、細胞増殖が野生株に比べて著しく低下した。Ssp1 と Sds23 は機能的に深く関連するが、両者ともその分子機能はこれまでほとんど理解されていなかった。本研究では、Ssp1 が哺乳類 CaMKK と高度な類似性を有することを見出した。第一に、Ssp1 のアミノ酸配列は CaMKK と似ており、キナーゼドメインの下流にカルモジュリン結合ドメインの特徴を持つ配列が存在した。また、キナーゼドメインとカルモジュリン結合ドメインの間に、高度に保存された配列を見出した。この保存配列は Ssp1 の正常な機能に必須であった。第二に、Ssp1 は 14-3-3 タンパク質 Rad24 および Rad25 と結合していた。哺乳類 CaMKK は 14-3-3 の結合によって制御されていることが知られており、この結合は PKA (cAMP 依存性タンパク質キナーゼ) によるリン酸化に依存する。Ssp1 においても、PKA のコンセンサス配列に該当するリン酸化サイトが同定された。第三に、CaMKK に関する最近の研究でも、グルコースの取り込みや利用への関与が報告されていることから、Ssp1 が低グルコース濃度下での生育に関わることは、CaMKK との機能的類似性を示唆している。一方 Sds23 は、PP2A および PP2A 様ホスファターゼ Ppe1 に直接結合することを本研究で初めて見出し、試験管内ホスファターゼ活性測定系を用いて、PP2A 様ホスファターゼの阻害因子であることを突き止めた。以上の結果は、低グルコース濃度下での分裂酵母の生育に、拮抗する Ssp1 キナーゼと PP2A 様ホスファターゼ関与することを示している。これらの機能制御の理解には、PKA やストレス応答タンパク質キナーゼ Spc1 によるリン酸化、および制御因子の結合に関する研究が必要と考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

グルコースは、生物にとって基本的な炭素源、エネルギー源であり、環境中におけるグルコースの多寡に適切に反応することは生物の生存や種の維持に重要であると考えられるが、その分子機構は十分に解明されていない。本論文において申請者は、分裂酵母をモデル生物に、これまでその機能が知られていなかった *ssp1+* と *sds23+* 遺伝子が低濃度グルコース存在下での増殖に重要な役割を果たすことを遺伝学的に証明し、それがカルシウムや cAMP による信号伝達を介したものであることを示唆する結果を得た。

申請者は、まず、*sds23+* 遺伝子が、必須遺伝子である *ssp1+* 遺伝子の変異株温度感受性を多コピーサプレッサーとして抑圧するという観察結果に基づいて、両遺伝子が同じような経路に関わることを予想し、実際に両遺伝子の変異体が低グルコース環境下で共通して生育異常を示すことを発見した。次に、両遺伝子が果たす生物学的な機能を明らかにする目的で、アミノ酸配列をデータベース解析することで、Ssp1 がカルモジュリン結合ドメインを有する CaMKK (Ca²⁺/カルモジュリン依存性蛋白質キナーゼキナーゼ) に類似した蛋白質であることを見いだした。この類似性は、1) Ssp1 とほ乳類 CaMKK の間で保存されているアミノ酸配列の変異体の機能解析、2) Ssp1 がほ乳類 CaMKK 同様、14-3-3 蛋白質と結合していること、3) ほ乳類 CaMKK と 14-3-3 蛋白質の結合を制御する PKA (protein kinase A) によるリン酸化が Ssp1 についても観察されることから、実験的にも支持された。

一方、Sds23 の結合蛋白質として、PP2A (protein phosphatase 2A) および PP2A 様ホスファターゼ Ppe1 を同定し、試験管内反応によって、Sds23 がホスファターゼ阻害作用をもつことを証明した。以上の結果は、Ssp1 と Sds23 が、おそらくカルシウムや cAMP によるシグナルによって下流因子のリン酸化を協調的に制御する可能性を示している。

以上要するに、本論文は、これまで機能が不明であった分裂酵母 *ssp1+* と *sds23+* 遺伝子の生物学的役割を明らかにするための第一歩となる知見をあたえるものであり、それらが環境のグルコース濃度への生物反応に深く関わることを示したことから、分裂酵母をモデル生物として用いることで、環境に存在するグルコースの多寡に対する生体反応を明らかにすることはもとより、糖尿病などのヒト疾患の分子機構を解明できる可能性を示したもので、生命科学の発展に大きく寄与するものである。

以上のことから、本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。尚、平成 21 年 3 月 30 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。