

( 続 紙 1 )

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                             |     |       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 博士 ( 生命科学 )                                                                                                                                 | 氏 名 | 下 林 貢 |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Studies on Regulatory Mechanism of Nutrient-sensitive Ypk1 Expression in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ( 酵母栄養応答シグナル調節分子Ypk1の発現量制御に関する研究 ) |     |       |
| <p>( 論文内容の要旨 )</p> <p>細胞は外部環境の栄養状態の変化に応じて、細胞内シグナル伝達を介し、タンパク質の合成や分解を制御している。栄養環境変化に応じた細胞内シグナル伝達分子の適切な制御は細胞の増殖や生存にとって、必須である。出芽酵母Ypk1はAGCキナーゼファミリーに属するセリン・スレオニンプロテインキナーゼの一種で、アクチン骨格制御やエンドサイトーシスに加えて、タンパク合成を正に制御している。酵母は窒素源飢餓時にYpk1の発現量を負に制御して、タンパク合成を抑制することが報告されている。しかしながら、窒素源飢餓誘導性Ypk1の発現制御機構に関してはこれまで明らかにされていない。</p> <p>本研究において申請者は、窒素源飢餓時に起こるYpk1の発現制御に関する分子機構の解明を試みた。第一章では、窒素源飢餓時におけるYpk1の発現量の減少が酵母におけるリソソームとして考えられている液胞でのタンパク分解によるものであることを明らかにした。さらに遺伝学的解析によって、窒素源が存在する培養条件では細胞質に局在しているYpk1の窒素源飢餓誘導性の液胞への輸送にはオートファジー制御因子が必要であることを示した。古典的にオートファジーは様々な栄養飢餓により誘導される非選択的細胞分解システムとして知られている。しかし、申請者はYpk1のオートファジー依存的な液胞輸送は基質選択的であり、かつYpk1は様々なオートファジーを誘導する刺激の中でも窒素源飢餓特異的に分解を受けることを示した。第二章では、窒素源飢餓誘導性Ypk1の分解制御に必要な分子の同定を目的として、遺伝子スクリーニングを行った。その結果、これまでエンドソーム輸送への関与が知られている、Endosomal-sorting complex required for transport (ESCRT)複合体のサブユニットが窒素源飢餓誘導性のYpk1の液胞への輸送、分解に関与していることを明らかにした。さらに窒素源飢餓時にエンドソーム輸送系によって液胞へと輸送されるトリプトファン透過酵素Tat2との比較によって、ESCRT複合体は本来のエンドソーム輸送系とは異なる機能によって、Ypk1のタンパク分解を制御していることを示した。Ypk1はスフィンゴ脂質によって活性制御を受けていることが報告されている。第三章では窒素源飢餓誘導性Ypk1の分解におけるスフィンゴ脂質の機能について検討を行い、スフィンゴ脂質分子種的一种イノシトールリン酸セラミドが窒素源飢餓誘導性Ypk1の分解のみならず、オートファジーに必要なことを示した。</p> <p>本研究において申請者は、新規選択的オートファジーの基質としてYpk1を同定し、その輸送機構を明らかにした。これらの結果は細胞がどのように外部環境の栄養変化に適応しているかを明らかにしていく上で、重要な知見になるものである</p> |                                                                                                                                             |     |       |

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

生物は栄養状態の変化に応じて、増殖をコントロールしており、細胞内シグナル伝達系やタンパク質の合成や分解の制御が重要な役割を果たしている。出芽酵母のサイトゾルに存在するYpk1は、酵母の増殖に重要な役割を果たしているセリン・スレオニンプロテインキナーゼである。窒素源飢餓時に、Ypk1の発現量が減少し、酵母の増殖抑制に寄与していることが知られているが、その発現量制御機構は不明であった。そこで本研究は、窒素源飢餓時のYpk1の発現制御機構に関して研究を行ったものである。

申請者は、まず、窒素源飢餓時におけるYpk1の発現量の減少が酵母の液胞（哺乳動物のリソソームに相当）でのタンパク分解によるものであること示した。さらに、サイトゾルのYpk1が液胞への輸送されるためには、オートファジー制御因子が必要であることを明らかにした。古典的なオートファジーは、比較的長時間を要する非選択的分解システムとして知られているが、Ypk1のオートファジー依存的な分解は数時間のうちに起こり、現在のところYpk1に特異的であった。また、様々なオートファジーを誘導する刺激の中でも窒素源飢餓特異的にYpk1は分解された。さらに、窒素源飢餓によるYpk1の液胞への輸送を阻害する変異株の解析を行った結果、後期エンドソームのmultivesicular body形成に必要なEndosomal-sorting complex required for transport (ESCRT)複合体の幾つかのサブユニットが窒素源飢餓時のYpk1の液胞への輸送に関与していることを明らかにした。また、このESCRT複合体は本来の後期エンドソーム輸送系とは異なる機能によって、Ypk1のサイトゾルから液胞への輸送に関与していた。Ypk1はスフィンゴ脂質によってリン酸化を受けていることが報告されている。そこで、窒素源飢餓時のYpk1の分解にスフィンゴ脂質がどのような影響を与えているかについて検討を行った。その結果、スフィンゴ糖脂質分子種の一つイノシトールリン酸セラミドが窒素源飢餓時のYpk1の分解に必要なことが明らかにされた。

本研究において申請者は、Ypk1の窒素源飢餓における分解機構を解明する中で、これまでの古典的なオートファジーとは異なり、ESCRT複合体が関与する新規選択的オートファジー機構を明らかにした。これらの結果は飢餓などの外部環境の栄養変化にどのように細胞が適応しているかを明らかにしていく上で、重要な知見になるものと考ええる。

よって本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成22年11月4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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日