

学 位 審 査 報 告 書

(ふりがな) 氏 名	おく まさや 奥 雅弥
学位（専攻分野）	博 士 （ 理 学 ）
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 ・ 専 攻	理学研究科生物科学専攻
(学位論文題目) 新規ゴルジ体調節機構ゴルジ体ストレス応答の発見と解析	
論 文 調 査 委 員	(主査) 森和俊 教授 阿形清和 教授 青山卓史 教授

京都大学	博士（理学）	氏名	奥 雅弥
論文題目	新規ゴルジ体調節機構ゴルジ体ストレス応答の発見と解析		
(論文内容の要旨) 真核細胞内の重要な構成単位であるオルガネラは細胞が生命活動を営む上で必要な種々の機能を分担している。そのひとつであるゴルジ体は分泌経路によって運ばれるタンパク質の翻訳後修飾やプロセッシングを行い、それらを分類して輸送する機能を担っている。ゴルジ体が分泌タンパク質の産生量の変動に応じて増減する現象は知られていたが、その分子的な機構は詳しく調べられていなかった。同じく分泌経路に位置する小胞体では小胞体ストレス応答という調節機構によってその量や機能が制御されていることが明らかになっていることからゴルジ体にも同様の調節機構(ゴルジ体ストレス応答)が存在し、細胞の需要に応じてゴルジ体の機能を調節していると推測できる。本研究はゴルジ体ストレス応答の分子機構の解析を目的に遂行された。 薬剤モノネンシンによる処理でゴルジ体の機能を阻害すると、ゴルジ体の構造タンパク質 GCP60、糖鎖修飾酵素 SIAT4A、小胞輸送因子 STX3A などゴルジ体に関与する複数の遺伝子が発現誘導されることがわかった。このことからストレス応答性のゴルジ体調節機構が存在していることが明らかになり、これをゴルジ体ストレス応答と定義した。またその他に、ユビキチン様タンパク質 UFM1 なども誘導されており、これらも間接的にゴルジ体の機能調節へ寄与している可能性が考えられる。モノネンシンによる標的遺伝子の発現誘導は小胞体ストレス応答とは独立したものであったことから、ゴルジ体ストレス応答はゴルジ体特異的な応答であることが示された。さらに、標的遺伝子 GCP60, SIAT4A, UFM1 のプロモーター解析から、応答に必要な相同な配列を同定し、その配列を Golgi Apparatus Stress response Element (GASE) と命名した。 この GASE に結合する転写因子を同定するために酵母を用いた yeast one-hybrid screening を行い basic Helix-Loop-Helix leucine zipper 型転写因子 MLX を同定した。MLX はモノネンシン処理時に細胞質から核内への局在性の変化を呈したが、活性化ドメインを有していないため GASE を介した転写を亢進させる機能は持たず、寧ろ抑制効果を示した。存在が予期される MLX とは別の転写活性化因子も MLX と同じく GASE を認識すると考えられるため、その構造に相同性があると考え bHLHzip 型転写因子である TFE3 を候補として見出した。TFE3 は GASE を介した転写を強く誘導し、モノネンシン処理時に分子量の変化を起こすことから、これがゴルジ体ストレス応答を活性化する転写因子であると強く示唆された。 以上によりゴルジ体ストレス応答という全く新しいオルガネラ調節機構の存在を明らかにし、その分子機構として標的遺伝子、転写制御配列 GASE、及び転写抑制因子 MLX、転写活性化因子 TFE3 を同定し、ゴルジ体ストレス応答の分子的基盤の理解が得られた。			

(論文審査の結果の要旨)

真核生物の細胞内には小胞体やゴルジ体など様々な細胞小器官が存在し、細胞の機能を分担している。それぞれの細胞小器官の存在量は細胞の需要に応じて厳密に調節されており、必要な時には必要な細胞小器官だけが必要なだけ増強される機構が存在する。このような細胞小器官の存在量の調節機構は細胞という精密機械が自律的に機能するために必須の機構であり、細胞生物学の根幹に関わる重要な研究課題である。

小胞体の存在量の調節機構(小胞体ストレス応答)の分子機構についてはこれまでに詳しく解析されており、小胞体膜上に存在するセンサー分子が小胞体の機能不足(小胞体ストレス応答)を感知すると、その情報が核に伝達されて小胞体の機能を担う遺伝子群の転写を誘導することによって小胞体の機能が増強されることが知られている。一方、ゴルジ体の存在量の調節機構(ゴルジ体ストレス応答)に関しては、これまでに全く解析がされてこなかった。奥はこのような未開拓の研究領域に果敢に挑戦し、以下のような重要な成果を挙げた。

ヒト細胞にゴルジ体ストレスを与え、どのような遺伝子の転写が誘導されるかについて DNA マイクロアレイによって調べた結果、ゴルジ体構造維持タンパク質やゴルジ体の糖鎖修飾酵素、小胞輸送因子などゴルジ体の機能に関わるタンパク質をコードする遺伝子の転写が誘導されることを見いだした。この結果は、ゴルジ体ストレス応答が存在することを分子生物学的に初めて証明した重要な成果である。

上記の標的遺伝子のゴルジ体ストレスによる転写誘導を制御する転写制御配列を調べたところ、いずれの標的遺伝子も共通の転写制御配列(ACGTGGC: GASE と命名)によって制御されていることを見いだした。GASE に結合するタンパク質を検索した結果、bHLH-ZIP 構造を有する転写因子 MLX と TFE3 を同定した。MLX は転写活性化領域を持っておらず、GASE に結合することによって標的遺伝子の転写を抑制する転写抑制因子であることがわかった。一方、TFE3 は標的遺伝子の転写を促進する転写活性化因子であることを明らかにした。更に、ゴルジ体ストレス時に MLX の細胞内の局在性が変化すること、TFE3 の分子量が変化することも見いだしている。

以上の結果は、ゴルジ体ストレス応答という新規の研究領域を開拓し、研究発展のための基盤を築くものであり、その成果は細胞生物学の研究分野に大きな影響を与えるとともに、ゴルジ体に関与する諸々の疾患の病態解明に貢献することが期待される。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成23年1月21日論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。