

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 小寺 千絵

真核細胞内の小胞輸送は、輸送小胞を介してオルガネラ間で生体分子のやりとりを行うシステムである。輸送小胞の形成はドナーとなるオルガネラ膜上でコートタンパク質複合体が低分子量 GTPase によって制御されながら集合するのを駆動力としており、小胞体においては、COPII コートと呼ばれるコートタンパク質複合体と低分子量 GTPase Sar1 によって COPII 小胞と称される輸送小胞が形成される。COPII コートを構成する Sec23 サブユニットは、Sar1 の GTPase 活性を促進する活性 (GAP 活性) を持ち、COPII 小胞形成の制御を行っている。多くの生物種において Sec23 には複数の相同遺伝子が存在するものの、相同遺伝子間の機能の違いについては明らかにされておらず、また出芽酵母においては相同遺伝子の存在について報告されていない。本論文は、出芽酵母において Sec23 と高い相同性を示す機能未知遺伝子 YHR035W の機能解析を行い、Sec23 の機能と比較するとともに、YHR035W によって制御される Sar1 の機能について広く考察したものである。

本論文は全 6 章から構成され、第 1 章: General Introduction、第 2 章: Introduction、第 3 章: Experimental Procedure、第 4 章: Results、第 5 章: Discussion、第 6 章: General Discussion となっている。まず、出芽酵母ゲノムデータベースより Sec23 と高い相同性を示す遺伝子を探索したところ、アミノ酸配列で 25% の相同性を有し、また Sec23 の GAP 活性に必須であるアルギニン残基も保存されている機能未知遺伝子 YHR035W を見出し、これを NEL1 と命名して解析を行っている。sec23 温度感受性変異株に Nel1 を過剰発現させたところ、制限温度下において Nel1 は Sec23 の機能を相補することが出来なかった。また、Sec23 の過剰発現は酵母の生育を阻害することが示されているが、Nel1 の過剰発現は酵母の生育に影響を与えなかった。さらに、Sec23 は Sec24 あるいはそのアイソフォームである Lst1、Iss1 と複合体を形成して機能しているが、Yeast Two Hybrid 法、および pull-down 法で解析したところ、Nel1 は Sec24 およびそのアイソフォームとは結合しないことが示され、これらの結果から Nel1 は細胞内において Sec23 とは異なる機能を持つ因子であることが示唆された。

次に、酵母から Nel1 を精製する実験系を構築し、得られた精製 Nel1 を用いて解析を行ったところ、Nel1 は Sec23 の GAP 活性に必須であるアルギニンと相同の 592 番目のアルギニン残基依存的に Sar1 に対して強い GAP 活性を示した。さらに、Sec23 の GAP 活性は COPII コートのサブユニットである Sec13/31 の存在下でさらに促進されるが、Sec13/31 は Nel1 の GAP 活性に影響を示さず、これは、Nel1-Sar1 複合体に Sec13/31 が結合しないためであることが示された。これらの結果から、Nel1 は Sar1 の GAP として

機能するものの、COPII コートのサブユニットとしては機能していないことが示された。

次いで、Nel1 と Sar1 の遺伝学的相互作用を調べている。NEL1 を単独で欠損させても細胞の生育に影響はないものの、温度感受性となる sar1D32G 変異と組み合わせると、細胞の生育が遅くなることから、Nel1 は細胞内において Sar1 と機能的に相互作用していることを示している。また、細胞内における Nel1 の局在を調べるため、蛍光タンパク質を融合させた Nel1 を発現させた細胞の顕微鏡観察と、細胞分画による生化学的解析から、Nel1 は細胞質と核内の両方に局在していることを明らかにし、Sec23 が示す小胞体出口部位への局在とは大きく異なることを示している。

以上をまとめると、論文提出者は本研究において、出芽酵母の機能未知遺伝子 NEL1 の機能解析を行い、COPII コートのサブユニット以外で Sar1 と機能的に相互作用する因子を初めて同定した。また、本研究における結果は、小胞体からの輸送小胞形成に関わる因子の機能が多岐にわたる可能性を示唆する重要な知見を提供し、細胞内輸送の分野において有意義な貢献をするものと認められる。

なお、本論文は、佐藤健、依光朋宏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究の立案、遂行、および考察を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本審査委員会は博士（理学）の学位を授与するにふさわしいものであると認める。