

博士論文内容要旨

申請者氏名 金 鍾明

出芽酵母のゲノム解析を通して新規に見い出された機能未知遺伝子を、個々の遺伝子レベルで機能解明することは、ポストゲノム解析における重要課題である。本論文は、ゲノム解析の結果から見い出された、機能未知 YER057c/Yjgf/UK114 タンパク質ファミリーに属する出芽酵母遺伝子 YER057c および YIL051c の機能解析を通して、出芽酵母細胞における側鎖型アミノ酸合成系の新規制御機構の発見と、ミトコンドリア維持機構に関する新たなメカニズムの存在を示唆する結論をえた。

YER057c および YIL051c タンパク質のアミノ酸配列を比較したところ、これらはアミノ酸配列全体を通して高度に保存（相同性 70%）されていた。一方、大きな相違点は YIL051c タンパク質の N 末端領域にのみ見い出されるミトコンドリア移行シグナル（MTS）の有無だけであった。これらタンパク質は出芽酵母細胞において、細胞質と核およびミトコンドリアにそれぞれ局在していた。次にこれら遺伝子の破壊株をそれぞれ作成し、網羅的に表現型検索を行った結果、YIL051c 遺伝子破壊株はミトコンドリアの脱落を伴う呼吸機能欠損を示した。また、この遺伝子破壊株はイソロイシン特異的に栄養要求性を示すとともに、イソロイシン欠乏依存的なミトコンドリアの脱落を生じることも明らかになった。さらに、YIL051c 遺伝子破壊株は、イソロイシンを基質とした時のみ、側鎖型アミノ酸特異的なアミノ基転位酵素活性が顕著に低下することから、この遺伝子はイソロイシン合成経路の最終段階であるアミノ基転位反応段階に関与することが分かった。YIL051c タンパク質 N 末端領域にコードされる MTS 配列を YER057c タンパク質の N 末端に付加し、YIL051c 遺伝子破壊株に対する表現型相補実験を行なったところ、YIL051c 遺伝破壊株細胞のイソロイシン要求性を完全に相補できた。このことから、YER057c および YIL051c タンパク質間の機能的類似性が示唆された。

これまでに側鎖型アミノ酸合成経路における制御因子の存在は報告されておらず、YIL051c タンパク質を介した側鎖型アミノ酸合成の制御機構の発見はアミノ酸代謝系を理解する上で、重要な鍵となるだろう。また、側鎖型アミノ酸生合成とミトコンドリア機能を結び付ける新しい研究の出発点になると考える。

論文審査の要旨

申請者氏名 金 鐘明

ゲノム研究の進行によって、多くの生物種のゲノムから多数の機能未知の遺伝子が発見されている。なかでも、生物界に広く保存されている遺伝子は、オルソログとしての重要な機能が予測されることがからその機能解析が要請される。本研究は出芽酵母全塩基配列情報を用いて、細菌、古細菌、真核微生物、下等および高等動植物全てに高く保存され、その機能がほとんど解析されていない遺伝子ファミリーの1つを抽出し、出芽酵母に於ける機能を明らかにすることを目的にした。選択した YER057c/Yjgf/Uk114 ファミリーはアミノ酸 140 の小型のタンパクで、細菌では低分子合成の調節に高等動物ではタンパク合成と細胞分化にかかわっていることが示唆されていることにとどまっている。出芽酵母の2個のホモログは 70%相同性で、ミトコンドリア移行シグナルを含む N-端 16 個の配列の有無以外は共通である。申請者はシグナルを持つ YIL051c がミトコンドリアに、シグナルのない YER057c が細胞質に局在すること、遺伝子破壊株は YIL051c のみがイソロイシンを要求し、ミトコンドリアの構造と機能に欠損を示すことを発見した。YER057c の機能は見いだせなかったが、ミトコンドリア移行シグナルを付加することによって YIL051c の欠損を遺伝的に相補することを証明した。イソロイシン要求性の機構を解析した結果、合成の最終段階を触媒するロイシン、バリン、イソロイシンに共通に働くアミノ基転移酵素にイソロイシン特異性を付与する因子であることを明らかにした。また、YIL051c タンパクの欠乏に伴う、ミトコンドリアの変化は呼吸活性低下が急速に起こり、並行してミトコンドリア DNA の凝集に続いて、消失が起ること、又この変化はイソロイシン添加で抑制できることを示した。以上の結果、YIL051c 遺伝子は側鎖型アミノ酸の特異性決定とイソロイシンに依存したミトコンドリアの維持の両機能を併せ持つことを初めて明らかにした。

以上のように本論文は保存性の高い遺伝子機能の解析から、側鎖アミノ酸代謝の特異性を決定する機構と、イソロイシンによるミトコンドリア機能維持にかかわる調節現象の存在を初めて明かし、細胞の重要な機能の理解を著しく進展させたものであり、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって、審査員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。