

氏名	石川 浩史
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第5541号
学位授与の日付	平成29年 3月24日
学位授与の要件	自然科学研究科 地球生命物質科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	A buffering mechanism against genetic perturbations in gene expression (遺伝子発現における遺伝的摂動に対する緩衝機構)
論文審査委員	教授 沓掛和弘 教授 竹内 栄 准教授 阿保達彦 准教授 守屋央朗

学位論文内容の要旨

多くの遺伝子では、遺伝子コピー数の増加はタンパク質発現量の増加に結びつき、そのコピー数が2倍になるとタンパク質発現量も2倍になる。これに対して、少数の遺伝子では、遺伝子コピー数の増加に伴い mRNA の発現量は増加するもののタンパク質発現量の増加にはそのまま結びつかないことが知られている。この現象は、タンパク質レベルの遺伝子量補償と呼ばれている。本研究では、この現象の体系的な理解を目指し、(1)遺伝子量補償を受ける遺伝子の探索、(2)遺伝子量補償機構の解明、(3)遺伝子量補償の生物学的役割の検討、を行った。

(1)では、出芽酵母第一染色体の54遺伝子を対象としたスクリーニングを行い、補償を受ける遺伝子を5つ同定した。これらの5つの遺伝子は、相互に異なるタンパク質複合体のサブユニットをコードしている。これらの複合体を構成する12のサブユニットの遺伝子をスクリーニングと同じ手法で調べたところ、そのうちの7つが遺伝子量補償を受けることが判明した。

(2)では、ユビキチン-プロテアソーム系またはオートファジー-リソソーム系の活性化による分解量の増加、ならびに、翻訳量の減少が補償に関与するか否かについて検討した。その結果、ユビキチン-プロテアソーム系の活性が阻害された変異株では遺伝子量補償の程度が低下し、ユビキチン化された標的タンパク質の蓄積が観察された。一方、オートファジー-リソソーム系の経路で主要な役割を担うことが知られている *ATG5* または *PEP4* 遺伝子の欠失株においては、すべての標的タンパク質が野生株と同程度の補償を受けることが示された。翻訳量の解析では、スクリーニングによって同定された *POP5* 遺伝子を解析対象とし、リボソームプロファイリング法を用い、mRNA 上のリボソーム密度を指標とした翻訳効率を測定した。その結果、*POP5* 遺伝子のコピー数を20程度に増やしても、その mRNA の翻訳効率は変化しないことが判明した。以上の3つの解析から、ユビキチン-プロテアソーム系が遺伝子量補償に関与することが示唆された。

(3)では、スクリーニングによって同定された Rbg1 タンパク質を含む Rbg1-Tma46 複合体について解析した。Tma46 タンパク質の遺伝子コピー数と Rbg1 モノマー量の関係を解析したところ、*TMA46* 遺伝子のコピー数を増やした時には Rbg1 モノマーの量が1.3倍程度に増加したのに対し、同遺伝子の欠失株では0.5倍程度に減少した。また、*TMA46* 遺伝子のコピー数を増やした時には Rbg1 モノマーだけでなく Rbg1-Tma46 複合体の量の増加も観察された。このことから、複合体を構成するサブユニット間の量比の乱れが遺伝子量補償によって補正されることで複合体の量が調整されている可能性が示唆された。

本研究では、(1)によってサブユニットが補償の標的になりやすいこと、(2)によってユビキチン-プロテアソーム系が補償機構であること、(3)によって遺伝子量補償の影響がサブユニットのみならず複合体の量にまで及ぶこと、が示された。これらの結果は、遺伝子量補償の生物学的役割のひとつとして、サブユニット間の量比の維持がある可能性を強く示唆するものである。

論文審査結果の要旨

細胞内の種々のタンパク質の発現量が最適な値から逸脱すると、細胞機能に様々な悪影響が生ずる。一方で、タンパク質の発現量が多少乱れても細胞の機能に悪影響を及ぼさないようにする機構の存在が示唆されている。タンパク質の発現量の乱れは遺伝子発現過程への摂動によって生じることから、この摂動を緩衝してタンパク質発現の乱れを防ぐ機構が存在している可能性がある。本研究は、出芽酵母*Saccharomyces cerevisiae*を真核細胞のモデルとして用い、遺伝子コピー数の増加という遺伝的摂動がタンパク質発現量の増加につながらないように緩衝されるものを組織的に探索すること、および、その緩衝の機構を明らかにすることを目的として行われた。

まず、緩衝を受けるタンパク質を探索するため、遺伝子コピー数が増加した際に1コピーあたりから発現されるタンパク質の発現量が減少するものを検出する実験手法を新規に確立し、その手法で第一染色体の54遺伝子について解析した。その結果、緩衝を受けるタンパク質遺伝子を5個同定した。これらの遺伝子はすべてタンパク質複合体のサブユニットをコードしていることと、緩衝を受けるタンパク質を含む複合体の他のサブユニットの多くも同様に緩衝を受けることから、この緩衝作用は複合体のサブユニットを標的として行われていることが示唆された。これらのタンパク質のmRNAの量はコピー数を増加させても変化しないことや、プロテアソームの変異体では緩衝が減少することなどの結果から、この緩衝はユビキチン-プロテアソーム系によるタンパク質分解の加速により行われていることが示唆された。さらに、緩衝を受けるPop5タンパク質について、その翻訳速度は緩衝を受けないことを明らかにした。また、緩衝を受けるRbg1タンパク質の量が複合体のパートナーであるTma46タンパク質との量比によって決まることを明らかにし、この緩衝作用が複合体サブユニットの量比を調整する機構として存在している可能性を示した。

以上の研究成果は、タンパク質発現や細胞機能の維持において、遺伝的摂動に対する緩衝機構が存在することを初めて体系的に示したものであり、分子遺伝学の発展に寄与し、学術上の貢献が大きいものであると評価される。したがって、審査員一同は、本論文を博士（理学）の学位論文に値するものであると判断した。