

氏名	新生 翔		
学位の種類	博 士 (生物工学)		
学位記番号	博 甲 第 8602 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on the Mechanisms Underlying Lifespan Regulation and Heat Stress Response of Transcription Factor DAF-16 in <i>Caenorhabditis elegans</i> (線虫における転写因子DAF-16の寿命制御と熱ストレス応答に関する研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	深水昭吉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	谷本啓司
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村圭志
副査	筑波大学講師	博士 (学術)	大徳浩照

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、哺乳類 FOXO ファミリーのオルソログであり、インスリン-PI3K-AKT 経路の下流で負に制御されている線虫のフォークヘッド転写因子 DAF-16 に着目し、線虫を用いた遺伝学的解析を中心に研究を行い、その内容を記述したものである。著者は、第一章では序論として、DAF-16 がインスリンシグナルを介して寿命制御に関与することに加え、様々なストレスに応答する生体反応に重要な役割を担っていること、さらに多様な翻訳後修飾を受けることで転写活性が制御されるが、それらの根底にある分子機構は未解明であることを述べている。そこで著者は、CRISPR/cas9 や線虫個体での DAF-16 転写活性評価 (Luc assay) 系を確立し、分子機構の解明に取り組んでいる。

1997 年に DAF-16 が寿命制御に関与することが報告されて以来、長寿遺伝子と目される DAF-16 の標的遺伝子と寿命延長の関連が精力的に研究されているが、DAF-16 の転写活性化能が寿命延長に必須であるのかは不明のままである。本論文の第二章では、DAF-16 の転写活性化能欠損変異体の作製と、同変異体が線虫の寿命延長に与える影響の解析結果が述べられている。著者は、DAF-16 の転写活性化能を担う領域をコードする DNA 配列について、CRISPR/Cas9 を用いて線虫ゲノムから欠失させ、さらに、同変異型 DAF-16 が転写活性化能を欠損していることを、著者が構築した Luc assay 系により、線虫個体において確認した。同変異体の寿命延長に与える影響を検討したところ、寿命延長効果は半分程度にしか短縮しないことを明らかにしている。

第三章では、線虫個体における Luc assay 系が、熱ストレス条件下で内在性 DAF-16 の活性を定量的かつ簡便に評価できるという特性を活かし、DAF-16 の熱センサーの同定を試みている。著者は、温度感受

性イオンチャンネルに着目して解析した結果、GTL-1がDAF-16の熱応答に重要であることを見出している。また、変異体や遺伝学的解析を駆使することで、GTL-1がDAF-16の熱センサーとして機能することを明らかにしている。さらに第四章では、DAF-16をメチル化して転写活性を調節するアルギニンメチル化酵素であるPRMT-1の発現制御機構について、その制御因子の探索結果が述べられている。転写因子RNAiライブラリーを活用してRNAiスクリーニングを実施し、GATA転写因子であるELT-2がPRMT-1の遺伝子発現を正に、またアルギニンメチル化活性を負に制御することを明らかにしている。

審 査 の 要 旨

転写因子 DAF-16 は、寿命制御やストレス応答など様々な生体機能に関わり、その重要性が報告されている。本論文では、DAF-16 の転写活性化能に焦点を当て、CRISPR/cas9 を活用することで DAF-16 転写活性化能欠損変異体を持つ線虫を世界に先駆けて樹立し、同変異体が寿命延長効果を半分に短縮することを見出している。これらの知見は、DAF-16 の転写活性化能に依存する機能に加え、転写を介さない機能も重要である可能性を新たに示した点で大きな意義があると考えられる。一方、DAF-16 が転写非依存的にどのようにして寿命延長を引き起こしているのか、分子機構の解明が今後の課題である。

また、従来の熱センサーの解析は、線虫の表現型解析に基づく探索が中心に行われており、下流の因子の活性に着目した解析は進展していない。本論文では、温度感受性イオンチャンネルに着目し、著者が確立した線虫個体における DAF-16 転写活性評価系や変異体、遺伝学的解析を駆使することで、GTL-1 が DAF-16 の熱センサーとして機能することを明らかにしている。今後は、GTL-1 と DAF-16 の間を繋ぐシグナル経路の同定など、分子レベルの研究の進展が期待される。

さらに本論文では、DAF-16 の活性制御因子である PRMT-1 の発現制御機構を、転写因子 RNAi ライブラリーと *prmt-1* 発現レポーターを有する遺伝子改変線虫を用いることで同定している。GATA 転写因子 ELT-2 が *prmt-1* の発現を正に制御する一方で、アルギニンメチル化活性を負に制御することも明らかにしている。しかし、同一の転写因子による二重の制御機構の生物学的意義の理解については、今後解明されるべき点である。

転写因子DAF-16を中心に、変異体や評価系など自ら研究ツールを確立することで、従来とは異なる視点で研究に取り組み、DAF-16の機能や制御機構を新たに考察した研究として評価できる。

平成30年1月18日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。