【157】

氏　名（本籍）	藤　田　盛　久（岐 阜 県） （ふじ　た　もり　ひさ）
学 位 の 種 類	博　　士（理　　学）
学 位 記 番 号	博　甲　第　3989　号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 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	**Biosynthesis and Function of Glycosylphosphatidylinositol in *Saccharomyces cerevisiae*** （出芽酵母におけるグリコシルフォスファチジルイノシトールの役割と生合成機構）

主　査	筑波大学教授（連携大学院）	農学博士	地　神　芳　文
副　査	筑波大学教授	理学博士	漆　原　秀　子
副　査	筑波大学教授	理学博士	鎌　田　　博
副　査	筑波大学教授	理学博士	沼　田　　治

論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞表層に存在するタンパク質の中にはグリコシルフォスファチジルイノシトール（GPI）とよばれる糖脂質によって膜にアンカーされているタンパク質が多く存在する。GPI のタンパク質への転移はタンパク質が翻訳された後に小胞体で行われる。この修飾は酵母・原虫からヒトに至るまで幅広く保存されており，個体発生や生存に必須の役割を果たしている。現在，GPI の生合成に関わる遺伝子の同定や GPI アンカー型タンパク質の輸送に関する研究は精力的に行われているが，GPI アンカー部分の役割や生理的意義に関してはほとんどわかっていない。出芽酵母は分子遺伝学的手法を駆使できるという利点を持ち，小胞体での GPI の生合成過程は哺乳類とほとんど同一であるため，GPI アンカー型タンパク質を研究する上で理想的なモデル生物である。本研究では，出芽酵母を用いて GPI アンカーの修飾に関わる遺伝子 GPI7 および BST1 を解析することにより，GPI アンカー部分の生理的役割を分子レベルで解明することを目的とした。

GPI 生合成経路には 24 以上の遺伝子が関わっているが，酵母ではそのほとんどが生育に必須である。GPI7 は生育に必須でない数少ない遺伝子の一つであり，GPI にエタノールアミンリン酸を付加する酵素をコードしているが，この生理的役割については全く分かっていなかった。そこで遺伝学的手法により，GPI の側鎖エタノールアミンリン酸の生理的役割の解明を試みた。gpi7 変異細胞を観察した結果，高温（37℃）条件下で娘細胞が母細胞から分離せずに増殖を停止することが分かった。この gpi7 変異株の温度感受性を多コピーで抑圧する遺伝子を検索したところ，細胞壁合成および細胞周期に関わる遺伝子群が得られた。一方，gpi7 変異株の温度感受性を抑圧する二重変異株の分離も試みた。その結果，cbk1 変異と ace2 変異が gpi7 変異の温度感受性を抑圧することを見出した。Cbk1p は娘細胞に特異的な転写因子 Ace2p を介して細胞分離に重要な役割を果している。Ace2p 依存的に発現し，細胞分離に関わる GPI アンカー型タンパク質をコードする EGT2 遺伝子の破壊も，温度感受性を抑圧した。Egt2p の細胞内局在を調べたところ，gpi7 破壊株では Egt2p が隔壁へ正しく輸送されないことが分かった。以上のことより，細胞分離時の娘細胞における GPI アンカー型タンパク質の隔壁へのターゲティングに GPI7 遺伝子が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

一方，小胞体にはタンパク質が正しい立体構造をとっているかどうかをチェックする品質管理機構が存在し，立体構造をうまくとれなかったタンパク質は小胞体から排出されて細胞質に存在するプロテアソームで分解される。タンパク質の品質管理機構にはN-結合型糖鎖のような翻訳後修飾が重要な役割を果たしているが，GPIアンカー型タンパク質にはどのような品質管理機構が働いているのか，今まで全く不明であった。そこでこの機構を解明するため，正しく立体構造をとれなくなったモデルGPIアンカー型タンパク質の作成を試みた。その結果，点変異導入によりミスフォールドしたGPIアンカー型タンパク質（Gas1*p）の作成に成功した。Gas1*pにはGPIアンカーは転移しているが，細胞表層へと輸送されず，プロテアソームで分解されることが分かった。さらに，GPIアンカーがタンパク質へ転移した後，GPIアンカーのアシル基を外す酵素Bst1pが働かないとGas1*pが効率よく分解されなくなることを見出した。また免疫沈降の結果から，Gas1*pはBst1pさらにはタンパク質のフォールディングを助けるシャペロンと結合することが分かった。以上の結果より，GPIアンカー型タンパク質には今まで報告されている糖タンパク質とは異なる新規の品質管理・分解機構が存在し，この機構にはBst1pによるGPI部分の脱アシル化が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は，出芽酵母における主要な翻訳後修飾であるGPIの生合成とその生理機能との関連を，生合成経路上異なる2つの酵素をコードする遺伝子の変異株を用いて解析したものである。その結果，細胞壁の主要な構成成分であり，酵母の増殖に連動した細胞分離に重要なGPI型グルカナーゼ（Egt2p）の細胞壁局在に，GPIの特定のマンノースにエタノールアミンリン酸を付加するGpi7pの機能が重要なことを明らかにした。これは，GPIに付加したエタノールアミンリン酸の生理的意義を明らかにした最初の研究として，極めて重要なものである。また，GPIアンカー型タンパク質に今まで報告されている糖タンパク質とは異なる新規の品質管理・分解機構が存在し，この機構にはBst1pによるGPI部分の脱アシル化が重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。この成果は，GPIアンカー型タンパク質の品質管理機構に関する最初の重要な発見であり，その成果は極めて高く評価されるものである。

これらの成果は，酵母のみならず，真核微生物全般に有益な細胞壁合成，あるいはヒトを含む真核生物全般に有益なタンパク質の品質管理機構，の両分野に極めて貴重な学術的知見を提供するものである。

よって，著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。