Osaka University Knowledge Archive

Title	出芽酵母における脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の多重シグナルによる転写制御機構
Author(s)	中川, 洋史
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44255
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【2】

氏　　名	中川洋史（なかがわようじ）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学位記番号	第　17208　号
学位授与年月日	平成14年5月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学位論文名	**出芽酵母における脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の多重シグナルによる転写制御機構**
論文審査委員	（主査） 教授　原島　俊 （副査） 教授　品川日出夫　教授　室岡　義勝　教授　卜部　格 教授　福井　希一　教授　小林　昭雄　教授　塩谷　捨明 教授　吉田　敏臣　教授　関　達治　教授　金谷　茂則 教授　二井　將光

論文内容の要旨

本論文は、出芽酵母（*Saccharomyces cereivisiae*）における脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 *OLE1* の多重シグナルによる転写制御機構についての研究成果をまとめたものであり、緒論、本文3章および総合考察からなっている。

緒論では、脂肪酸の不飽和化反応に必須である *OLE1* 遺伝子の、多重シグナルによる転写制御機構を解明する重要性を指摘して本研究の目的と意義を明確にした。

第1章では、*OLE1* 遺伝子の転写が低酸素シグナルにより活性化されることを明らかにした。また、この転写活性化が、これまでに唯一知られていた酸素シグナル応答性転写抑制因子 Rox1p を介した機構とは異なる新しい型の機構により行われることを明らかにした。さらに、*OLE1* 遺伝子プロモーター領域の欠失解析により、翻訳開始コドンの約 360 bp 上流に、低酸素シグナルによる転写活性化に必要十分な 50 bp の O2R（O_2-regulated）領域を同定した。また、この O2R 領域は、低酸素条件下における不飽和脂肪酸シグナルによる *OLE1* 遺伝子の転写抑制をも担うことを明らかにした。

第2章では、*OLE1* 遺伝子の発現異常変異株の解析から、*OLE1* 遺伝子の転写が細胞外（培地中）の不飽和脂肪酸により抑制されるだけでなく、細胞内不飽和脂肪酸欠乏シグナルによって活性化されることを明らかにした。さらに、低酸素シグナルと細胞内不飽和脂肪酸欠乏シグナルは、それぞれ独立のシグナル伝達経路ではなく、生体膜の流動性シグナルを介した共通の伝達経路を経て *OLE1* 遺伝子の転写を活性化することを示唆した。

第3章では、*OLE1* 遺伝子の転写が低温シグナルによって一過的に活性化されること、それに伴い、細胞内の不飽和脂肪酸含量が増加することを明らかにした。さらに、膜タンパク Mga2p が真核生物において今まで同定されていなかった低温シグナル伝達経路のセンサーであることを明らかにした。

総合考察では、本研究で得られた知見をまとめ、出芽酵母において、低酸素、低温および不飽和脂肪酸という多重シグナルが生体膜の流動性シグナルとして合流することによって、*OLE1* 遺伝子の転写を制御するとのモデルを提案し、真核生物遺伝子の多重シグナルによる転写制御機構の基盤的知見とした。また、高等生物においてこれまで知られている低酸素、低温および不飽和脂肪酸シグナル伝達経路との共通点、相違点を示し、高等生物における脂肪酸不

飽和化酵素遺伝子の転写制御機構についても出芽酵母と同様の機構が保存されている可能性について考察した。さらに、本研究で得られた知見の、創薬や醸造産業への応用についても言及した。

論文審査の結果の要旨

増殖、分化、恒常性の維持など生命現象の多くは、細胞外シグナルによって厳密に制御されている。細胞外シグナルは受容体（あるいはセンサー）の活性化を経て細胞内シグナルに変換され、最終的な標的遺伝子へと伝達される。1990 年代には、多くの細胞内シグナル伝達機構の基本的な骨格が明らかにされた。しかし、近年、高等生物においては、シグナル伝達経路の分岐、フィードバック、クロストークの重要性が認識され、未だ解明されるべき点の多いことが指摘されている。従って、そうした複雑な生命現象を理解するためには、単一のシグナルによって制御される調節系だけではなく、多重のシグナルによって制御を受ける調節系がどのように制御されているかを、シグナル伝達経路間の相互作用も視野に入れて研究する必要があろう。

Saccharomyces cerevisiae（出芽酵母）は基礎生命科学の研究における真核生物のモデルであり、全ゲノムの配列が決定された最初の真核生物である。従って、出芽酵母は、高等生物ではその複雑さゆえに解析が困難な多重シグナルによる転写制御機構を解析する格好の研究材料である。本論文は、Δ９脂肪酸不飽和化酵素をコードする *OLE1* 遺伝子が、不飽和脂肪酸、酸素、低温の３種のシグナルによりどのように転写制御を受けるかを詳細に明らかにしたものである。その成果は次のように要約される。

(1)*OLE1* 遺伝子の転写が低酸素シグナルによって活性化されている明確な実験的証拠を提示している。また、この転写活性化が、従来酸素シグナル伝達系で知られている Rox1p タンパクによるものではない新しい機構によるものであることを明らかにしている。

(2)*OLE1* プロモーター上に、低酸素シグナルによる転写活性化に必要十分な 50 bp の酸素制御（O_2-regulated；O2R）領域を同定している。

(3)低酸素シグナルによる *OLE1* の転写活性化は不飽和脂肪酸（UFA）によって抑制され、この転写抑制は、O2R 領域によって担われていることを明らかにしている。また、50 bp という短い O2R 領域に、低酸素および UFA シグナルの両方が作用することから、不飽和脂肪酸と酸素の２種のシグナルがその伝達経路の最終段階で合流している可能性を示唆している。

(4)好気条件かつ UFA 存在下においても、野生型株に比べ *OLE1* 遺伝子の高い発現を引き起こす *nfo3-1* 変異を相補する遺伝子をクローン化し、それが *OLE1* 遺伝子そのものであることを明らかにしている。

(5)*nfo3-1* 変異アレルでは、脂肪酸不飽和化酵素の触媒活性に必須な領域の近傍に存在する 346 番目のアルギニン残基がリジン残基に変異しており、その結果、細胞内 UFA 含量が顕著に低下していること、従って、細胞内の UFA 欠乏シグナルが *OLE1* の転写を活性化することを示している。

(6)*nfo3-1* 変異株の細胞内 UFA 含量の測定から、細胞内 UFA 含量の低下それ自体がシグナルではなく、その結果引き起こされる生体膜流動性の低下が *OLE1* の転写を活性化するシグナルであることを示唆している。これより、低酸素および細胞内 UFA 欠乏シグナルは、それぞれ独立のシグナル伝達経路ではなく、生体膜の流動性シグナルを介した共通の伝達経路を経て *OLE1* の転写を活性化する可能性を示唆している。

(7)生体膜流動性の低下を引き起こす低温によっても *OLE1* の転写が活性化されることを示し、これが、Mga2p タンパクと名付けられた膜タンパクの欠損株では起こらないことを明らかにしている。

以上のように、本論文は、酸素、不飽和脂肪酸、低温の３種のシグナルが、生体膜の流動性の低下というシグナルに統合されて *OLE1* 遺伝子の転写を制御すること、また、生体膜の流動性が、膜タンパク Mga2p によって検知されていることを明らかにしたものであり、高等生物遺伝子の多重シグナルによる転写制御を理解する有用なモデルとなる新しい知見を得ている。本研究で得られた成果は、多様なシグナル伝達機構、特に高等生物におけるシグナル伝達機構を理解する上で、寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。