

論文内容の要旨

申請者氏名 Nguyen Sy Le Thanh

A zinc ion, which is an essential cofactor for a large number of proteins, is required for the function of various proteins located in both cytosol/nuclei and the endoplasmic reticulum (ER). Here the applicant describes that in yeast cells, the ER-stress sensor Ire1 was activated upon zinc deficiency. ER-stressing stimuli activating Ire1 are known to include accumulation of unfolded proteins and membrane-lipid aberrancy in the ER. According to the applicant's findings obtained in the present study, zinc deficiency caused both types of abnormalities. Namely, depletion of zinc ions from the ER was likely to impair ER protein folding, which caused formation of protein aggregates containing ER-located molecular chaperone BiP.

Here the applicant also describes that Ire1 physically interacted with an ER membrane-located zinc ion transporter Zrg17, as hemagglutinin epitope-tagged Ire1 and Myc epitope-tagged Zrg17 were co-immunoprecipitated from yeast cell lysates. Although the luminal domain of Ire1 captured ER-located unfolded proteins, association of Zrg17 with Ire1 did not depend on this property of Ire1. The applicant thus proposes that Ire1 works on Zrg17 for a novel biological event.

Under severely zinc-deficient conditions, Ire1 stabilized Zrg17. Although it is widely accepted that Ire1 works as an RNase (in splicing/maturation of mRNAs encoding transcription factors for ER-protein genes), in this case, its kinase activity but not RNase activity was crucial. Indeed, upon severe zinc deficiency, Zrg17 was phosphorylated in an Ire1-dependent fashion. Zrg17 seems to be important for ER homeostasis when zinc depletion is severe, since Zrg17-gene deletion aggravated ER stress induced by severe but not mild zinc depletion. The applicant thus proposes that under mild zinc-deficiency conditions, in which ER stress is not severe, the cellular level of Zrg17 is low and is not required for ER homeostasis. However, severe zinc depletion strongly activates Ire1, which then phosphorylates and stabilizes Zrg17 for efficient transport of zinc ions from cytosol to the ER.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Nguyen Sy Le Thanh

小胞体局在の I 型膜貫通タンパク質である **Ire1** は酵母から高等動植物に至る真核生物細胞全般に存在するタンパク質であり、小胞体ストレスに応じた防衛応答を惹起する。小胞体ストレスとは、小胞体における分泌タンパク質の高次構造形成に不全を来たし、変性タンパク質が小胞体内腔に蓄積する状態であると解されている。全真核生物に共通であり、細胞の恒常性維持に重要であろうと推察される **Ire1** および小胞体ストレス応答経路であるが、細胞がおかれたどのような生理的場面において、それらが必要とされ、また、機能を発揮するのか、明確にはなっていない。

本論文では、必須元素である亜鉛欠乏が小胞体ストレスとなって **Ire1** を活性化すること、および、それに対応ための生命現象として、**Ire1** がどのような挙動を示すのかについて、申請者の研究成果が記されている。申請者の研究成果を以下にまとめる。

申請者は、出芽酵母において、**Ire1** が小胞体膜局在性亜鉛イオントランスポーターである **Zrg17** と会合しており、小胞体ストレスに応じて活性化した **Ire1** は **Zrg17** をリン酸化し、リン酸化された **Zrg17** は安定化することを見出した。この現象は、極度に亜鉛が欠乏して小胞体におけるタンパク質の高次構造形成が不全をきたした場合において、サイトゾルから小胞体へ亜鉛イオンを運び込み、核/サイトゾルと細胞内膜系との間の亜鉛イオン分配を適正にするという意義を有すると考えられる。

Ire1 はセリン・スレオニンキナーゼと RNA 切断酵素という 2 つの酵素活性を併せもつタンパク質であり、従来は、RNA 切断酵素活性がエフェクターとなることが知られてきた。すなわち、小胞体ストレスに応じて **Ire1** は自己リン酸化し、RNA 切断活性を発揮する。そして、出芽酵母においては、**HAC1 mRNA** をスプライシングによって成熟させ、その翻訳により転写因子タンパク質が生じ、小胞体で機能するタンパク質の発現が誘導される。このような既知の事象とは異なり、本論文において申請者は、**Ire1** がキナーゼとして機能し、他のタンパク質（すなわち **Zrg17**）をリン酸化するという現象を明らかにした。その意味でも、本研究の新規性は高い。

以上のように、本論文は第一に亜鉛欠乏という生理的あるいは病的にも重要な事象による小胞体ストレスの惹起を報告し、さらには第二に、それに対する防衛応答として、**Ire1** による亜鉛イオン運搬体のリン酸化による安定化という、新規な生命現象を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、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。