

## 論文内容の要旨

申請者氏名 Tran Minh Duc

小胞体は分泌タンパク質や膜貫通タンパク質の折り畳みや会合が行われる細胞内小器官である。その機能不全は、小胞体への構造異常タンパク質蓄積を伴い、小胞体ストレスと呼ばれる。小胞体ストレスに対する防衛応答が小胞体ストレス応答であり、その中の最も主要な現象が、小胞体内在性分子シャペロンなどの発現誘導である。Ire1は小胞体ストレス応答を担う小胞体局在膜貫通タンパク質であり、真核生物細胞全般に保存されている。Ire1はエンドリボヌクレアーゼ活性を有する。そして、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では、小胞体ストレスに応じて活性化した Ire1 は、転写因子タンパク質をコードする *HAC1* mRNA をスプライシングにより成熟させることが知られている。

小胞体内腔に蓄積した構造異常タンパク質が Ire1 に直接的に会合して Ire1 を活性化し、その結果 Ire1 が活性化されることはよく知られている。一方、Ire1 が介する小胞体ストレス応答には、構造異常タンパク質の処理以外の生理的役割もあることが近年の研究により明らかにされつつあり、本研究で申請者は、出芽酵母においてどのような局面にてこのシグナル伝達経路が働くのかを検証した。

グルコースなど発酵可能な糖が豊富に存在する状態では、出芽酵母は主として発酵によりエネルギーを得るが、一方、細胞の増殖に伴い糖が枯渇した場合は、エタノールを中心とした発酵産物が有酸素呼吸により消費される。この発酵から呼吸への切り替えが Diauxic shift である。申請者はまず、Diauxic shift 時に Ire1 が活性化し、一過的に小胞体ストレス応答を引き起こすことを見いだした。しかし、申請者のデータによると、Diauxic shift は小胞体におけるタンパク質折り畳み不全をもたらさない。そして申請者は、呼吸の活性化に伴って生じる活性酸素種が Ire1 の活性化に関わることを強く示唆する知見を得た。また、Diauxic shift における Ire1 活性化は一過的であり（呼吸による増殖が安定すると、小胞体ストレス応答は減弱する）、Ire1 は複雑な制御を受けていると考えられる。Ire1 の各種変異体を用いた実験などから、Diauxic shift 時にも Ire1 は複雑な制御を受けており、小胞体内の何らかの状態も Ire1 が検知していることを示唆するデータを申請者は得ている。

また、Ire1 遺伝子破壊株などを用いた申請者の知見によると、Ire1 が司る小胞体ストレス応答は、Diauxic shift 後および非発酵性培地での細胞の生存や増殖に寄与する。さらに申請者は、Diauxic shift 時のミトコンドリア伸展における Ire1 の寄与を見いだした。よって本研究は、小胞体ストレス、すなわち小胞体への異常タンパク質蓄積に対応するための生命現象として知られていた小胞体ストレス応答が、Diauxic shift への細胞応答、すなわち、ROS の検知とミトコンドリア伸展という局面にも使われていることを示すものである。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名     Tran Minh Duc

小胞体は分泌タンパク質の折り畳みなどを担う細胞内小器官である。小胞体の機能不全は小胞体ストレスと総称され、折り畳み不全タンパク質の小胞体への蓄積を伴う。これは細胞にとって有害であり、細胞は小胞体ストレス状態を避けるため、そして、小胞体ストレス状態から回復するため、Unfolded protein response (UPR)を引き起こす。UPRとは、小胞体内在性分子シャペロンを含む小胞体タンパク質の転写レベルの誘導であり、それを担う因子としては、小胞体膜貫通タンパク質 Ire1 が知られている。

UPRの存在は1980年代末に明らかにされており、次いで、1990年代から2000年代にかけて、主として出芽酵母や哺乳類培養細胞を用いた研究により、Ire1を含めてどのような因子がどのように働いてUPRが引き起こされるのかについて、分子細胞生物学的な理解が深められてきた。そして、その結果明らかにされたことのひとつとして、Ire1は小胞体内腔に蓄積した構造異常タンパク質を直接的に捕捉することにより、強いUPR惹起活性を発揮する。

一方、2010年代には、UPRおよびその制御因子がどのような生理的意義を有するかという問いにアプローチするための研究が進められてきた。そして、必ずしもタンパク質の折り畳み不全を伴わない場合でも、Ire1が活性化してUPRが引き起こされる事例が注目を集めている。例えば、膜脂質の組成異常である。

本論文において申請者は、出芽酵母において、活発な呼吸を始めたときにUPR経路が活性化し、その際のトリガーは構造異常タンパク質ではなく、呼吸によって生じるROSであることを強く示唆する知見を報告している。酵母における発酵性栄養源枯渇に伴う発酵性無酸素増殖から呼吸性有酸素増殖への切り替わりは、Diauxic shiftと呼ばれ、発酵工学的にも重要な事象であり、Diauxic shiftに伴う細胞の変化を司るメカニズムを見いだした本研究の成果は、応用面でも有意義であると考えられる。また、Diauxic shiftに伴う細胞の形態や性状、そしてトランスクリプトームやプロテオームの変化については数多くの報告があるものの、それらを促進する要因についての理解は乏しく、本研究の知見はその点にも解明に繋がると期待される。

以上のように、本論文はUPRの新たな生理的意義を明らかにし、Diauxic shiftという生物工学的にも重要な事象の理解を深めることにも貢献すると期待され、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。