

論文審査の結果の要旨

西村晶子

本論文は5章からなる。

第1章はイントロダクションであり7節からなる。浸透圧ストレス応答機構から始まり、MAPキナーゼ経路の一般論、酵母浸透圧応答に係わるHOG MAPキナーゼ経路、シグナル伝達特異性制御機構など本論文に関係のある諸分野を概説している。また、研究開始時点での当該分野の概況と解明すべき問題点の事例を挙げ、本研究を着想するに至った背景を説明している。短いながら、シグナル伝達機構一般から、より具体的なHOG MAPキナーゼ経路の制御機構にわたってバランスよく解説されており、基礎知識が十分であることを感じさせる。

第2章は実験結果であり9節からなる。まず第1節において、高浸透圧センサータンパク質Hkr1の細胞内領域(Hkr1-cyto)が恒常的活性型変異体Opy2やSte50によるHOG経路活性化に必須であるなど、Hkr1からの活性化シグナルの伝達に重要な機能を持つことを示した。第2節では、Hkr1-cytoの機能を明らかにする目的で行ったHkr1-cytoに結合するタンパク質の同定について述べている。ショットガンプロテオミクス解析法を用いたスクリーニングにより、Hkr1-cytoに結合する候補タンパク質として機能未知のタンパク質Ydl073wを同定し、Ahk1 (Associated with Hkr1)と命名し、第3節以降でその詳細な機能解析を行っている。第3節では、Ahk1の局在を観察し、Ahk1がbudに局在することを示した。第4節では、共沈実験によりAhk1が実際にHkr1に結合することを示すとともに、その結合ドメインを同定した。第5節では、Ahk1欠損株を用いてHOG経路活性化への影響を検討し、Ahk1が恒常的活性型変異体Opy2やSte50によるHOG経路活性化に必須である点など、HOG経路活性化においてHkr1-cytoと同様の機能を有することを示した。第6節では、Ahk1が高浸透圧センサータンパク質Sho1とSho1のSH3ドメインを介して結合することを示した。第7節では、Ahk1が高浸透圧依存的にPbs2 MAPKKと結合することを示し、詳細な結合ドメインを特定した。第8節においては、Ahk1がSte11 MAPKKKと結合することを示し、それぞれの結合ドメインを同定した。最後に第9節において、Ahk1は細胞内に複数存在するMAPK経路のシグナル特異性の維持に働くことを示した。細胞に高浸透圧刺激が与えられるとHKR1支経路からは通常Hog1 MAPKに活性化シグナルが伝達されて、貧栄養環境応答に関わるKss1 MAPKの活性化は起こらない。このHkr1セ

ンサーからKss1 MAPKへのシグナルのcross-talkがAhk1により抑制されていることを示すとともに、前節までに明らかにした他因子との結合、特にSte11とSho1との結合がcross-talk抑制に重要であることを示している。

第3章は考察である。本論文で解明したAhk1の機能、性質について、先行研究などとの比較を交えながら、その重要性を詳細に検討している。

第4章は展望で、未解決の問題点などについて今後の検討課題を指摘し簡潔に述べている。

第5章は実験方法であり本論文で使用された実験方法を述べている。

本研究は全般的に実験計画や得られたデータの解釈は緻密であり、最終的なモデルも十分な信頼性がある。高浸透圧センサーHkr1の新たな結合因子としてAhk1を同定し、これが複数のシグナル伝達因子と結合する足場タンパク質として高浸透圧応答性HOG経路の活性化とシグナル特異性の維持に働くという知見は極めて新規性が高く、意義深い。今後、Ahk1がHOG経路活性化とcross-talk抑制に働く分子機構を明らかにすることで、高浸透圧応答経路の活性化とシグナル特異性維持のさらなる理解に繋がることが期待される。

なお、本論文第2章は、山本勝良、尾山大明、秦裕子、斎藤春雄、舘林和夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験の立案とその実施、データの分析、及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。