

審査の結果の要旨

氏名 野中 源

細菌の RNA ポリメラーゼは、 $\alpha_2\beta\beta'\omega$ の 4 サブユニット 5 量体からなる本体（コア酵素）及び σ サブユニット（ σ 因子）から構成され、コア酵素に σ 因子が結合することで活性型のホロ酵素となる。RNA ポリメラーゼによる転写において、 σ は転写開始のプロセスで重要な役割を果たす因子であり、プロモーターの認識（recognition）とプロモーターへの結合（binding）、そして巻き戻し（melting）の機能を担っている。多くの細菌は housekeeping σ （ σ^{70} ）と呼ばれる生育に必須な遺伝子を発現するための σ の他に、環境変化やストレスへの応答、そして形態変化などの限られた状況に必要な特別なセットの遺伝子を発現するための alternative σ と呼ばれる σ を複数保持している。本論文は、大腸菌 *E. coli* の alternative σ と熱ショック応答について詳細に解析したものであり、3 章からなる。

第一章では、細胞質の熱ショック応答で中心的な役割を担う σ^{32} について、レギュロンメンバーを網羅的に解明することを目的として、DNA microarray を用いたグローバルな遺伝子抽出の手法、プロモーターを推定するためのバイオインフォマティクスの手法、そして全プロモーターを検証すべく転写開始点のマッピング及び in vitro 転写実験を行い、網羅的かつ高い精度で σ^{32} のレギュロンメンバーのほぼ全貌を明らかにしている。その結果、 σ^{32} は約 50 のプロモーター、約 90 の遺伝子を支配下に置くことがわかり、これまで知られていたレギュロンメンバーを約 3 倍に増やすことに成功した。そして σ^{32} による熱ショック応答はこれまでに知られていたよりもはるかに広範な細胞内プロセス、そしてタンパク質の保護に及ぶことを明らかとするとともに、*E. coli* における熱ショック応答について細胞質と細胞膜は主に σ^{32} が、そしてペリプラズムは主に σ^E が管理するという役割の分担が明らかとなった。

第二章では、60 個の全 σ^E プロモーターを GFP に連結したプロモーターライブラリーを構築し、全プロモーターを対象とした発現挙動の解析を行っている。その結果、 σ^E のレギュロンの挙動は予想以上にダイナミックなレンジをもっていること、そしてごく少数の非常に強いプロモーターと大半の弱いプロモーターから構成されていることを明らかにした。興味深いことに、強いプロモーターは転写調節因子やボーリンの恒常性維持に関わるものであり、*E. coli* とその近

縁種でよく保存されているものであった。RNAポリメラーゼの α -サブユニット C 末端が結合する UP エlement (-35~-65) の存在により、殆どのプロモーターの強度は強められることがわかった。更には σ^E プロモーターが ppGpp や UP エlement の影響を受け、そして σ^E ホロ酵素の細胞内レベルに応じた複雑な制御を受けていることが明らかとなった。

第三章では、全 σ^E プロモーターの網羅的な挙動解析によって確立したプロモーターライブラリーを用いた手法により、全 σ^{32} プロモーターの挙動解析を行っている。その結果、 σ^{32} のプロモーターも σ^E に劣らず非常にダイナミックなレンジでの挙動を示し (~100 倍のレンジ)、 σ^{32} による広範でダイナミックな熱ショック応答が存在することが明らかとなった。そして、シャペロンやプロテアーゼ等のいわゆる古典的な熱ショックタンパク質は強いプロモーターの部類に含まれ、タンパク質の恒常性維持が σ^{32} の最も重要な役割の一つであることが再確認された。また、一方で新たに見いだされた新規 σ^{32} プロモーターの多くは弱い部類に含まれることから、これまで発見されていなかったプロモーターとレギュロンを効率よく解析することができたことが確認された。更には、melting の能力を強化させた変異型 σ^{32} を用いた全 σ^{32} プロモーターの挙動の解析により、 σ^{32} が持つ弱い melting の能力がレギュロンのダイナミックなレンジでの発現に貢献していることを明らかとした。

以上、これらの研究成果は、学術上応用上寄与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（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。