

氏名	三宅 剛史		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	薬学		
学位授与番号	博乙第3780号		
学位授与の日付	平成14年 9月30日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)		
学位論文の題目	出芽酵母におけるグルタチオン代謝の研究 —その透過と利用の解析—		
論文審査委員	教授 篠田純男	教授 山本重雄	教授 岡本敬の介

学位論文内容の要旨

細胞内に最も多く存在する低分子チオール化合物グルタチオンの生理的意義を明らかにしていくためには、グルタチオンの持つ様々な生理機能としての役割に加え、硫黄代謝における硫黄源としての役割を理解することが重要である。そして、このような観点においては、グルタチオンの透過と利用が担う機能を明らかにすることが必須である。一方、酵母には、細菌のように分裂増殖するもの（分裂酵母）と母細胞から出芽した娘細胞が成熟して増殖するもの（出芽酵母）とがあるが、醸造および発酵に用いられる酵母のほとんどは出芽酵母である。そして、この中で最も代表的な出芽酵母である *Saccharomyces cerevisiae* は、モデル生物としても重要である。

そこで本研究では、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて、特に知見の少ないグルタチオンの透過と利用に注目し解析を行い、以下のことを示した。

グルタチオン透過系とその制御 出芽酵母が親和性の異なる2つのグルタチオン透過系（GSH-P1とGSH-P2）を持っていること、また、高親和性の透過系（GSH-P1）がエネルギー（ATP）依存的透過系であるとともに、細胞内の硫黄源枯渇により活性が誘導されることを見いだした。さらに、この制御系において、システインは負の調節因子として働き、GSH-P1の構造遺伝子 *GSH11* を転写レベルで制御すること、ならびに、*GSH11* 遺伝子の転写制御に関与しているシス領域を明確にし、新規な制御モチーフを確定した。なお、この制御モチーフはシスタチオニン α ライエースの構造遺伝子 *CYS3* のプロモーター部位にも存在するが、硫酸酸化経路遺伝子のプロモーター部位には存在しない。この結果から、*GSH11* および *CYS3* 遺伝子の転写制御では、硫酸酸化経路遺伝子の制御とは異なる制御機構が作動していると考えられる。

グルタチオンの硫黄源としての利用 グルタチオンを単一の硫黄源として含む培地で生育できない変異株を取得し、その解析を行った。その結果、これらの変異株には、GSH-P1活性の欠損と硫酸酸化活性の欠損とが共存していることが明らかになった。この結果から、グルタチオンの分解（利用）においては、液胞に存在し通常機能していると考えられている経路（グルタチオン \rightarrow システニルグリシン \rightarrow システイン）とは別に、グルタチオンからシステインを経由せずに硫酸イオンが生じる経路が存在し、機能していると結論した。さらに、硫酸酸化活性の欠損と、液胞に存在するグルタチオン分解酵素 γ グルタミルトランスペプチダーゼの欠損を共存させても、グルタチオンを単一硫黄源とする培地での生育には全く影響が見られないことから、グルタチオンの分解（利用）においては、 γ グルタミルトランスペプチダーゼが関与しない（つまり、液胞を経由しない）グルタチオンからシステインへの分解（利用）経路が存在し、機能していることも強く示唆された。

これらの知見から、硫黄源が枯渇した状態では、高親和性グルタチオン透過系の活性と硫酸酸化経路の活性が、細胞内硫黄源の恒常性維持のために大きく寄与するとともに、今回新たにその存在が示唆された、グルタチオンからシステインを経由せずに硫酸イオンが生じる経路ならびに液胞を経由しないグルタチオンからシステインへの分解（利用）経路が、細胞内硫黄源の恒常性を維持するために機能する重要な経路であることが考えられる。

論文審査結果の要旨

グルタチオンは細胞内に最も多く存在する低分子チオール化合物であるが、様々な生理機能に加え、硫黄源としての役割も担っている。申請者は硫黄源としての役割を理解するためには、グルタチオンの透過と利用を明らかにすることが必須であると考え、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いて、特に知見の少ないグルタチオンの透過と利用に注目し解析を行い、以下のことを示した。

まず、グルタチオン透過系に関して、出芽酵母が親和性の異なる2つのグルタチオン透過系 (GSH-P1 と GSH-P2) を持っていること、また、高親和性の透過系 (GSH-P1) がエネルギー (ATP) 依存的透過系であるとともに、細胞内の硫黄源枯渇により活性が誘導されることを見いだした。

さらに、この制御系において、システインは負の調節因子として働き、GSH-P1 の構造遺伝子 *GSH11* を転写レベルで制御すること、ならびに、*GSH11* 遺伝子の転写制御に関与しているシス領域を明確にし、新規な制御モチーフを確定した。ついで、グルタチオンを単一の硫黄源として含む培地で生育できない変異株を取得し、グルタチオンの分解 (利用) においては、液胞に存在し通常機能していると考えられている経路 (グルタチオン→システニルグリシニン→システイン) とは別に、グルタチオンからシステインを経由せずに硫酸イオンが生じる経路が存在し、機能していると結論した。

すなわち、硫黄源が枯渇した状態では、高親和性グルタチオン透過系の活性と硫酸資化経路の活性が、細胞内硫黄源の恒常性維持のために大きく寄与するとともに、グルタチオンからシステインを経由せずに硫酸イオンが生じる経路ならびに液胞を経由しないグルタチオンからシステインへの分解 (利用) 経路が、細胞内硫黄源の恒常性を維持するために機能する重要な経路であることを示した。これらの知見はグルタチオンの役割の解明に新たな展開を示すものであり、審査委員会は博士の学位に値すると判断した。