

氏名	佐伯 望
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第 6860 号
学位授与の日付	2023年 3月 24日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	過剰発現によりストレス環境への耐性を向上させる酵母遺伝子集団の性質に関する研究
論文審査委員	教授 清田 洋正 准教授 守屋 央朗 教授 田村 隆 准教授 金尾 忠芳
学位論文内容の要旨	
<p>生体は、内外の環境変化に応答して遺伝子発現量を緻密に制御する。この制御が適切に働くことにより、生体は様々な環境下でも増殖、生存することができる。従って、制御から外れた遺伝子の過剰発現は生体にとって有害であることが多い。一方、薬剤耐性菌やがん細胞などでは、コピー数変異、プロモーター変異、異数性などによる過剰発現がしばしば観察されることから、特定の条件では過剰発現が生体の増殖と生存に有利に機能する、すなわち適応的になる。しかし、どのような遺伝子集団の過剰発現が、どのようなメカニズムで適応的となるのかについては不明な点が多い。</p> <p>本研究では、適応的に働く過剰発現の本質を明らかにするために、出芽酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) で過剰発現が適応的な遺伝子を体系的に取得する「過剰発現プロファイリング」法を開発した。本手法では、出芽酵母ゲノムのそれぞれの遺伝子を過剰発現している細胞集団を競合培養し、濃縮された細胞集団が過剰発現している遺伝子をハイスループットシーケンサーで同定することにより、与えられた環境下で過剰発現が適応的な遺伝子集団を体系的に同定できる。実際に本手法で熱、塩 (NaCl)、酸化ストレス環境下で、過剰発現が適応的な遺伝子集団を同定した。これらの遺伝子集団は、既知のストレス応答遺伝子群とは異なっており、与えられた培養環境下で細胞が要求するカルシウムや銅などの因子を反映していた。</p> <p>近年、個体や株の遺伝的背景の違いが変異体の表現型に強く影響することが明らかになっている。そこで、遺伝的背景の違いが、過剰発現が適応的な遺伝子集団に対して与える影響を調べるため、遺伝的背景の異なる複数の <i>S. cerevisiae</i> 株を対象として、塩ストレス条件で適応的な遺伝子集団を過剰発現プロファイリングにより取得した。結果として、遺伝的背景の異なる株では、同じ塩ストレス条件でも適応的な遺伝子集団が異なっていた。さらに、株による遺伝子集団の違いは、塩ストレス耐性におけるカルシウムおよびカリウムの要求量の株間の違いを反映していた。</p> <p>本研究により、過剰発現が適応的な遺伝子集団を体系的に取得する過剰発現プロファイリング法を確立した。得られた遺伝子集団は、これまで不明な点が多かった環境と遺伝的背景の相互作用を明らかにする糸口となると考えられる。さらに、過剰発現プロファイリングは、与えられた環境と遺伝的背景において必要だが欠落している因子という、試行錯誤的な実験によってしか知ることができなかった情報を明確に示す強力な実験法であると言える。</p>	

論文審査結果の要旨

佐伯氏は、過剰発現により環境ストレス耐性を向上させる遺伝子群の特徴を調査し、過剰発現すると生体にとって有利に働く遺伝子群にはどんな特徴があるのか、その背景となる分子メカニズムは何かを解明することを目指した。

このため佐伯氏は、真核細胞のモデルであり応用微生物でもある出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) において、過剰発現すると環境ストレスへの耐性を向上させる遺伝子群を体系的かつ効率的に取得する手法、「過剰発現プロファイリング法」を開発した。この手法により、過剰発現によって高温・高塩 (NaCl) ・高酸化ストレスに対する耐性を向上させる遺伝子群を取得することに成功した。それらの遺伝子群の機能を手がかりに、高塩では培地にカルシウムが、高酸化では培地に銅が不足しており、それら不足要因を過剰発現した遺伝子が補っていることを明らかにした。このことから佐伯氏は、過剰発現によりストレス耐性を向上させる遺伝子群は、酵母が与えられた条件でストレス耐性を発揮するために必要だが不足している因子を反映すると結論した。佐伯氏は次に、高塩耐性におけるカルシウムの役割を調査した。結果として、高塩ストレス下ではミトコンドリアの呼吸鎖機能が傷害し活性酸素種を発生させること、これをカルシウムが抑圧している事を見いだした。さらに、カルシウムを添加した高塩ストレス条件での過剰発現プロファイリングの結果から、カルシウム存在下でのみミトコンドリア機能の亢進が高塩ストレス耐性を向上させることを明らかにし、カルシウムがミトコンドリアの正常な機能性に必要であることを裏付けた。

以上、佐伯氏の研究は生体にとって有利に働く過剰発現について重要な知見を提供するとともに、佐伯氏が開発した過剰発現プロファイリング法は酵母が必要とする環境要因を明らかにする有用性の高い手法であると考えられる。従って、佐伯氏は博士の学位に値するものと判定する。