

氏名	今藤 俊宏
学位の種類	博士（食産業学）
学位記番号	第54号
学位授与年月日	令和7年3月19日
学位授与の条件	学位規程第3条第3項該当
学位論文題目	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> HKR1 遺伝子のエキソン内在プロモーターによる 特殊な発現制御機構
論文審査委員	主査 笠原 紳 副査 日渡 祐二, 菰田 俊一

論文の要旨

今藤俊宏氏の博士論文は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* HKR1 遺伝子の特殊な発現制御機構について論述したものであり、さまざまな実験や観察のデータと、それらから導き出された考察を述べている。

HKR1 は、膜貫通型ムチン様タンパク質 Hkr1 をコードする、全長約 5.4 kb のイントロンをもたない遺伝子であるが、通常の遺伝子であればその転写は 5' 末端上流域にあるプロモーターから始まり、3' 末端下流域のターミネーターによって終結するところ、今藤氏は HKR1 のエキソン内部に第 2 のプロモーター（以下、エキソン内在プロモーターと表記）が存在することを示してきた。Hkr1 はマルチドメインから構成されるマルチファンクショナルなタンパク質であり、その全長が示す機能とエキソン内在プロモーターから発現する部分的な Hkr1^{tr}（以下、Hkr1^{tr} と表記）が示す機能は、それぞれ別個に捉える必要があると考えられていた。今藤氏の研究は、エキソン内在プロモーターの転写活性をレポータータンパク質（蛍光タンパク質 mUkG1 および β -ガラクトシダーゼ）を用いて精査し、さらにその領域長を解析した上でエキソン内在プロモーターから発現してくる Hkr1^{tr} の機能を明らかにして、エキソン内在プロモーターが存在することの細胞生理学的意義を解き明かそうとしたものである。

具体的な実験としては、まずエキソン内在プロモーターの存在を確認した上でその領域長を調べ、コアとなる配列の上流域がプロモーター活性に及ぼすことを示している。プラスミド上でエキソン内在プロモーターと推定される配列の領域長を段階的に変えてそれぞれにレポーター遺伝子である *mUkG1* または *lacZ* を連結し、それらのプラスミドを *S. cerevisiae* に導入して、蛍光顕微鏡観察とフローサイトメトリーによる測定、あるいは ONPG を基質として β -ガラクトシダーゼの活性測定を行ったものである。また、エキソン内在プロモーターの活性化条件を確認するために、さまざまなストレス条件下で形質転換体を培養し、プロモーター活性を評価する実験も行っている。結果として、エキソン内在プロモーターの上流配列にはその転写活性を抑制する配列が含まれていることを明らかにし、また高浸透圧ストレス、特に塩化ナトリウムによりもたらされる高浸透圧ストレスの下に置かれることでエキソン内在プロモーターの抑制的制御が解除されてその転写活性が上昇することも示している。

エキソン内部にプロモーターをもつ遺伝子は極めて稀であり、このような事象が確認されれば、限られた数の遺伝子からより多様な生命現象がもたらされる例として遺伝子発現制御の新たな可能性が示され、分子遺伝学上の重要な知見を得ることにもなる。また酵母のストレス受容と応答、さらに広い意味での環境応答に関する分子機構の解明にも繋がってくる。今藤氏の研究で得られた知見を活用して高いストレス耐性を有し、環境適応性に富む遅い酵母の分子育種へと展開することも期待できる。また、*S. cerevisiae* は真核の

モデル生物として様々な角度から研究がなされており、医学・薬学や発酵工学をはじめとする広範な応用科学、産業分野の進展にも貢献するものと考えられる。

なお、これらの研究成果は、今藤氏を筆頭著者として以下の査読付きオープンアクセス国際学術論文ジャーナルに掲載されている。

Kondo T, Hosokawa Y, Ozawa R, Kasahara S (2024) A cryptic promoter in the exon of *HKR1* drives expression of a truncated form of Hkr1 in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS ONE 19(11): e0314016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314016>

審査結果の要旨

今藤俊宏氏は、博士論文研究の最終発表会において研究内容を報告し、質疑に対しても明快に応答した。また、主査および副査による最終試験でも博士論文研究の内容を詳細に説明した上で、質疑応答にも適切に対応することができた。よって、今藤氏の最終試験の成績は、合格に相当すると判断された。よって、同氏への博士(食産業学)の学位を授与することを可と判断した。