

# 論文審査の結果の要旨

氏名 青井 勇樹

学位申請者青井勇樹は、分裂酵母を用いて、減数分裂期の細胞周期を制御する分子機構の解明に取り組んだ。減数分裂は有性生殖を可能とする分裂様式であり、減数分裂前 DNA 合成、減数第一分裂、減数第二分裂、という 3 つの過程で構成される。減数分裂により 2 倍体の生殖細胞から 1 倍体の配偶子が形成される。ゲノムの倍数性維持のため、減数分裂における核分裂は厳密に 2 回に限定されなければならない。この特徴的な制御は、タンパク質の分解を促進する APC/C (anaphase-promoting complex/cyclosome) の活性を調節することで達成されると考えられる。APC/C は、体細胞分裂周期の制御に必須の役割を果たすユビキチンリガーゼで、APC/C を介した細胞周期制御因子サイクリンの分解は、サイクリン依存性キナーゼ Cdk の不活性化と、それに続く体細胞分裂期の終了に欠かすことのできない過程であることが知られている。

分裂酵母では、Mes1 タンパク質が減数分裂の第一分裂から第二分裂にかけて APC/C を阻害し、サイクリン Cdc13 の分解を妨げる。これにより Cdk 活性は維持され、減数第二分裂の開始が保証されている。カエルやシロイヌナズナにも減数分裂特異的な APC/C のインヒビターが存在し、減数第二分裂の開始に必要である。このように、「APC/C の阻害」を介した減数分裂に特異的な細胞周期制御のメカニズムは種を越えて保存されている。他方、減数第二分裂を終了するときには「APC/C の再活性化」が不可欠と考えられが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで学位申請者は、減数分裂を終了させるために必要な APC/C 制御の分子メカニズムの解明を目指した。

本論文は、序章、結果と考察（1 章と 2 章）、結論、展望からなる。結果と考察の 1 章では、Mes1 をコードする *mes1* 遺伝子の変異を抑圧する *sms* 変異の原因遺伝子の同定と解析が述べられている。学位申請者は、所属する研究室で単離されていた *sms* 変異の原因遺伝子の同定に取り組み、ホールゲノムシーケンシングを用いた変異解析により、*sms1*, *sms5*, *sms7* の原因遺伝子を同定した。*sms1* 変異の原因遺伝子は、APC/C の減数分裂特異的な活性化因子をコードする *fzr1* であった。APC-Fzr1 を介したサイクリン Cdc13 の分解が正常な孢子（配偶子）形成に必要であると以前に報告されている。*sms5* と *sms7*

の原因遺伝子はどちらも新規遺伝子であった。学位申請者は、*sms5*（独立の研究で *cuf2* と呼ばれているものと同一）および *fzr1* 遺伝子に着目してさらに解析を進めた。

*sms5* 破壊株と *fzr1* 破壊株では、減数第二分裂の後に4つを超える異常な核数をもつ細胞が出現した。細胞のライブ観察により、このような異常な核が形成される原因は、減数第二分裂の後に不完全な分裂装置が再形成され、染色体が過剰に分離を受けるためであると判明した。すなわち、*sms5* と *fzr1* 遺伝子は、減数分裂を終了させるために必要な因子をコードすることが示唆された。

結果と考察の2章では、*sms5* がコードする Sms5 が、*fzr1* 遺伝子の転写を促進する因子であることを証明した。アミノ酸配列から Sms5 は N 末端に DNA 結合ドメインをもつことが予想され、蛍光タンパク質を融合した Sms5 は減数分裂特異的に発現し、減数第一分裂から減数第二分裂にかけて核内に局在した。DNA 結合ドメインに変異をもつ Sms5 は細胞質に拡散した。さらに、*sms5* 破壊株では *fzr1* mRNA 量が有意に低下しており、Sms5 は *fzr1* 遺伝子のプロモーター領域に特異的に結合した。これらのことから Sms5 は転写因子で、*fzr1* がその重要なターゲット遺伝子であることが強く示唆された。また、これに合致して、*sms5* 破壊株では Fzr1 の量が低下し、APC/C-Fzr1 の分解ターゲットであるサイクリン Cdc13 が減数第二分裂の後も安定化していた。

上記の研究結果から、学位申請者は結論において「Sms5 による Fzr1 の増加は Mes1 による APC/C-Fzr1 の阻害効果を打ち消し Cdc13 の分解を促進して Cdk を不活性化させる」というモデルを提唱し、展望では減数分裂の終了に必要な Sms5 による Fzr1 の供給システムの特徴と「減数第三分裂」を阻止する仕組みの保存性について論じている。

以上、青井勇樹は本研究により、減数分裂過程の終結のために Sms5-Fzr1-APC/C からの経路が働いて Cdc13 分解を促進し、Cdk を不活性化していることを解明した。さらに、Sms5 や Fzr1 が機能しないと減数第三分裂様の分裂が起こるという興味深い発見をした。これらの研究成果は、減数分裂の細胞周期制御の理解にとって重要なものであり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。

なお本論文は新井邦生、宮本昌弥、勝田雄治、山下朗、佐藤政充、山本正幸との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析およ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、青井勇樹に博士（理学）の学位を授与できると認める。