

論文審査の結果の要旨

氏名 新 真由美

学位申請者新真由美は、分裂酵母を用いて減数分裂期における特異な細胞周期の制御機構の解明を試みた。真核生物の行う細胞分裂には体細胞分裂と減数分裂の二種類の様式がある。体細胞分裂は増殖のための分裂であり、DNA 複製と核分裂が一度ずつ交互に起こる。それに対して減数分裂では、一度の DNA 複製の後に核分裂が二度連続して起こり、半数性の配偶子が生じる。体細胞分裂期の開始と進行を司る分裂期促進因子 (M-phase promoting factor : MPF) は、サイクリン依存キナーゼ CDK と活性化サブユニットであるサイクリンから成り、分裂酵母では Cdc2 キナーゼと B 型サイクリン Cdc13 の複合体である。分裂期は Cdc13 の合成量の増加に伴って MPF 活性が上昇することで開始し、後期促進複合体 (Anaphase-promoting complex/cyclosome : APC/C) の活性により Cdc13 の分解が促されて MPF 活性が低下することで終了へと導かれる。

減数分裂では二度の連続した分裂期が起こるが、第二分裂が開始するためには、第一分裂終了の際に減少する MPF 活性が完全には消失せずに維持されねばならないことが示されている。分裂酵母においては、この時期の制御に関与する因子として、APC/C の阻害因子である Mes1 (*meiosis second defective*) の機能が詳しく解析されてきた。しかし、Mes1 以外の因子の関与については不明な部分が多い。申請者は、第二分裂の開始と進行に関して新たな知見を得るべく、RNA 結合タンパク質 Spo5 に注目して解析を行った。論文は、序論、結果、考察、結論、材料と方法、参考文献、謝辞から構成されている。

研究結果は第 1 章から第 5 章に分けて記載されている。申請者は第 1 章で、新規の第二分裂変異体の単離を目的としたスクリーニングを行い、複数の *spo5* 遺伝子変異体を単離・同定している。*spo5* は以前に孢子形成に必要な遺伝子として解析されており、産物の Spo5 は分裂酵母の減数分裂期に特異的に発現する RNA 結合タンパク質で、C 末端側の領域に 2 つの RNA 結合モチーフを持つ。*spo5* 遺伝子の欠損株は生育には支障がないが、大部分の細胞が減数第二分裂を開始できずに 2 核の状態が減数分裂を停止し、孢子形成能も欠く。第 2 章において申請者は Spo5 タンパク質の機能領域の解析を進め、

RNA 結合モチーフが第二分裂の進行に重要であることを明らかにした。また、CDK 活性を亢進させるような変異によって *spo5* 変異株の第二分裂進行異常が部分的に回復することを見いだして、Spo5 が MPF 活性調節を介して減数第二分裂の進行に関与していることの示唆を得た。第 3 章では個々の細胞における Cdc13-YFP の局在観察とシグナル定量から、*spo5* 変異体の多くの細胞で、MPF の活性調節サブユニットであるサイクリン Cdc13 のタンパク質量が第二分裂に入る時期に急激に低下することを明らかにしている。すなわち、*spo5* 変異体で見られる第二分裂の前での減数分裂の停止は、少なくとも一部は CDK 活性の低下に起因すると考えられた。さらに、不可逆的な光変換蛍光タンパク質である Dendra を用いた解析で、*spo5* 変異体では野生型に比べて Cdc13 の合成速度が低下していることが観察された。

第 4 章では上述の実験結果を受けて、*spo5* 変異体において mRNA の合成・安定性、もしくは翻訳速度が低下している可能性を検討するため、ノザンブロットングおよび定量的 PCR により mRNA の発現量の比較を行った。その結果、*spo5* 変異体では野生型に比して *cdc13* mRNA が第二分裂期に十分に上昇しないことが明らかになった。従って、正常な減数第二分裂の進行には、Cdc13 の分解の部分抑制に加えて *cdc13* mRNA の発現量の上昇が必要であり、Spo5 がその調節に当たっていると考えられた。第 5 章では、*spo5* 変異体では Cdc13 の他にも Cdr2 や Cig2 など複数の CDK 活性調節因子が減数分裂の早い段階で細胞内から消失する様が観察されることが述べられている。これらの研究成果を総合して、申請者は、分裂酵母では Spo5 が複数の遺伝子の発現制御を介して減数分裂期における MPF 活性を確保し、減数分裂に特異的な分裂様式を保證する役割を担っていることを結論づけている。

以上、新真由美は本研究により、分裂酵母の Spo5 タンパク質が減数分裂過程において CDK 活性の確保に必要とされる新規の因子であることを証明し、その標的が *cdc13* など細胞周期制御因子の mRNA であることを解明した。これらの研究成果は、減数分裂に特異的な制御、特に第二分裂開始の制御機構について新しい知見を提供するものであり、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、新真由美に博士（理学）の学位を授与できると認める。