

論文審査結果の要旨

氏名 明楽隆志

本論文は、要旨（和文および英文）、序、材料と方法、結果と考察（1 節～6 節）、まとめと展望、参考論文および謝辞から構成される。

「序」では体細胞分裂における染色体分配の概要が述べられている。染色体分配における必須のプロセスである「双極性スピンドルの形成」、「染色体整列」、および「スピンドルチェックポイントによる染色体分配タイミングの制御」について、これまでの知見が述べられている。また本研究の目的がスピンドルチェックポイント因子 **Mad1** のスピンドルチェックポイント以外の分裂期機能の解明にあることが記述されている。

「材料と方法」では、本研究において使用された大腸菌および分裂酵母の遺伝子型と実験方法について詳細に記述されている。

「結果と考察」は 6 節から構成される。第 1 節では、分裂酵母の **Mad1** がその N 末端領域を介して **Cut7/キネシン-5** と直接結合することを見だし、**Cut7** と結合できない **Mad1** 変異体である **Mad1-KAKA** を作製したことについて述べられている。また、*mad1-KAKA* 変異株は正常にスピンドルチェックポイントを活性化できること、そして *mad1-KAKA* 変異株は *mad1* 破壊株と同程度に生育が悪いことから、**Cut7** との結合が **Mad1** の新規機能である可能性を示唆している。第 2 節では、**Cut7** の分裂期での局在を詳細に観察し、**Cut7** が微小管未結合のキネトコアに局在することを見だししている。また、この **Cut7** のキネトコア局在は *mad1-KAKA* 変異株において消失することから、**Cut7** は **Mad1** との結合依存的にキネトコアに局在すると結論づけている。さらに、*mad1* 破壊株において、**Cut7** を人工的にキネトコアに局在させると、*mad1* 破壊株における染色体分配異常や生育の悪さが回復したことから、**Mad1** の新規機能は **Cut7** のキネトコアへの局在化にあることを見だししている。第 3 節においては、分裂期において染色体が整列していく様子をライブ観察により調べている。その結果、*mad1-KAKA* 変異株では、整列できない染色体が **SPB**（酵母における中心体）に取り残されることを見だし、**Mad1** の新規機能は **Cut7** のキネトコア局

在化を介した染色体整列の促進にあることを示している。第 4 節においては、**Mad1** の **SPB** 局在が **Cut7** に依存していることについて記述している。この結果から、**Mad1-Cut7** 複合体は分裂前中期においては **Mad1** 依存的にキネトコアに、そして分裂中期においては **Cut7** 依存的に **SPB** に局在することを結論づけている。**Mad1-Cut7** 複合体の **SPB** 局在の意義については、**SPB** に取り残された整列できていない染色体に迅速に対処するためであるというモデルを提唱している。第 5 節においては、**Mad1** による染色体整列機構がヒトにおいても保存されている可能性について検討し、**Mad1** がヒトにおいても染色体整列に必要であるという実験結果が記述されている。第 6 節においては、ヒトにおいて **Mad1** がその N 末端領域を介して **CENP-E/キネシン-7** のキネトコア局在に寄与していることを述べている。**CENP-E** は高等生物において染色体整列に必要であることが、すでに報告されていることから、分裂酵母とヒトにおいて、**Mad1** はキネシンをキネトコアに局在化させることで染色体整列を促進するというモデルを提唱している。

本論文では、今まで謎であった **Mad1** の新規機能について分子レベルで明らかにしている。しかも、その機構は本質的には分裂酵母とヒトにおいて保存されたものである。「染色体整列」と「スピンドルチェックポイント」は分裂前中期において同時に必要性が生じるプロセスであり、これらを繋ぐ分子を同定した今回の結果は、大変重要な成果であると考えられる。

なお、本論文に示されたデータは、第 1 節の一部を除き、全て本論文提出者が主体となって行ったもので、本論文提出者の寄与が極めて大きいと判断する。

したがって、審査委員会は全員一致で明楽隆志に博士（理学）の学位を授与できると認める。