［ 別 紙 ２ ］

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名　　澁谷　大輝

全ての真核細胞はDNA・染色体を正確に複製・分配することによって遺伝情報を次世代に伝えており、その分配異常は種々の遺伝子疾患の原因となる。従って、その分子メカニズムの解明は医学的な観点からも早急な課題である。本研究は、これまで研究があまり進んでいなかった哺乳類の減数分裂期染色体制御の分子メカニズムに焦点を当てた。

本論文は4章6節で構成される。第1章では減数分裂における染色体の動態およびその分子制御機構について概説した。特に、通常のセントロメアによる染色体運動と対比させ、分裂酵母で発見された「染色体末端テロメアによる染色体運動制御」を概説した。

第2章1節では哺乳類の減数分裂期の染色体制御メカニズムを解析するために、電気穿孔法による、マウス精巣における外来遺伝子の一過的発現系を構築した。条件検討により、高い効率での遺伝子発現を可能とした。この技術を基に、蛍光タンパク質GFPと融合させたテロメアタンパク質TRF1を精母細胞に一過的に発現させ、live観察を行い、マウスの減数分裂期においてもテロメアを起点とした染色体運動が起きることを明らかにした。

第2章2節では、生体内電気穿孔法を用いてマウス減数分裂を制御する新規遺伝子の局在スクリーニングを行い、新規テロメア結合タンパク質TERB1を同定した。TERB1はヒトを含む脊椎動物間で保存された新規タンパク質であり、減数分裂期特異的にテロメアへと局在することが明らかになった。

第2章3節では、TERB1ノックアウトマウスを作製し、表現型解析を通じその分子機能に迫った。TERB1ノックアウトマウスは、減数分裂の異常により不妊の表現型を示した。細胞レベルの機能解析から、TERB1がテロメアと核膜の結合を担うことでテロメアを起点とした染色体運動を促進し、続く相同染色体の対合・組換え・分配を保証していることが示された。

第2章4節では、マウスの生体内でTERB1と協調して働くタンパク質群として、テロメアタンパク質TRF1や核膜タンパク質SUN1/KASH5、そしてコヒーシン複合体の構成タンパク質SA3を同定した。さらに、TRF1とのヘテロ複合体形成が、TERB1のテロメア局在に必要十分な制御であり、それが減数分裂前期の終盤にかけてリン酸化酵素CDK1による

TERB1 の 647 番スレオニンへのリン酸化により負に制御されることを示した。

第 2 章 5 節では TERB1 と SA3 コヒーシンとの協調的な役割に着目し、解析を行い、TERB1 の Myb ドメインを介した SA3 との相互作用がテロメアへのコヒーシン集積に機能しており、それにより染色体駆動力に耐えうる強固なテロメアクロマチン構造の形成に働いていることを明らかにした。

第 2 章 6 節では、TERB1 と核膜タンパク質 SUN1/KASH5 との局在依存性の検討を行った。それにより、TERB1 が SUN1/KASH5 の上流で働き、そのテロメア局在を制御することや、それにより細胞質モータータンパク質 p150 をテロメアへと呼び込み、染色体運動を引起こしていることが明らかになった。

以上、本研究はマウス減数分裂組織への一過的外来遺伝子発現系の構築により、新規テロメア結合タンパク質 TERB1 を同定し、さらに TERB1 の分子機構を明らかにすることで、哺乳類の減数分裂を制御する普遍的な分子制御を解明した。TERB1 タンパク質はヒトにおいても保存されており、本研究の成果は学術的な意義に留まらず、ダウン症や不妊症など減数分裂期染色体分配の異常に起因する疾患の原因解明・遺伝子治療への応用が期待される。よって、審査委員一同は、本論分が博士（農学）の学位論文として価値あるものであることを認めた。