

## 論文審査の結果の要旨

氏名 富樫 直之

本論文は序論、結果と考察（1章、2章）、材料と方法の4章からなり、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の減数分裂進行と胞子形成の分子機構を主たる研究対象としている。

序論の章では、分裂酵母の減数分裂期にのみ発現する RNA 結合タンパク質 Spo5 とその関連因子について、既知の事実がまとめられている。分裂酵母の減数分裂では、二度の連続した核分裂に続いて配偶子である胞子が形成される。転写制御因子による減数分裂進行の制御機構と比べ、RNA 結合タンパク質による制御機構に関しては不明な点が多い。先行研究で、減数第二分裂の進行と胞子形成に重要である RNA 結合タンパク質 Spo5 の解析が行われていた。しかし、Spo5 の機能に Spo5 が持つ2つの RNA 結合ドメイン RRM (RNA-recognition motif) がどの程度関与しているか、Spo5 がどのような RNA 分子と結合するかなどの点は不明であった。本論文では、RRM の詳細な解析をもとに Spo5 の核外移行の機構と意義および Spo5 と結合する mRNA を明らかにし、ATF/CREB 因子と胞子形成の関係についても新たな知見を得ている。

結果と考察の章では、1章で Spo5 の核外移行および Spo5 が結合する RNA 分子に関して、2章で ATF/CREB 因子に関する研究結果が述べられている。論文提出者は、最初に高温で胞子形成できない *spo5* 温度感受性変異株を探索した。得られた全ての *spo5* 変異体が RRM にミスセンス変異を持っていたため、RRM について詳細に解析した。その結果、RRM、特に RNA と直接相互作用することが予想される RRM の中の2つのフェニルアラニンが Spo5 の正常な機能と局在に重要であることが分かった。次に、Spo5 が RNA に結合して核外移行している可能性を検討したところ、核外移行は mRNA 輸送因子 Rael1 に依存していることが判明した。さらに、Spo5 の核外移行は胞子形成に重要な役割を果たしていた。以上より、Spo5 は mRNA 輸送経路で核外移行し、細胞質で働いていると結論した。

次に、論文提出者は、前述の探索で単離した *spo5* ミスセンス変異体を持ちいて、その胞子形成の異常を多コピーで抑圧する因子を探索した。その結果、*pcr1*<sup>+</sup> 遺伝子を単離した。分裂酵母の減数分裂期には Pcr1, Atf1, Atf21 および Atf31 の 4 つの ATF/CREB ファミリー転写因子が発現するが、Pcr1 のみが過剰発現によって *spo5* null 変異体 (*spo5Δ*) の胞子形成不能を抑圧した。続いて、Spo5 は *pcr1* mRNA と *in vitro* および *in vivo* で結合することを明らかにした。Spo5 は、体細胞分裂および減数分裂の進行に必須であるサイクリン Cdc13 をコードする mRNA にも結合した。さらに、Pcr1 は *cdc13*<sup>+</sup> 遺伝子の転写を促進することが強く示唆された。以上の結果等から、*pcr1*, *cdc13* mRNA は Spo5 が結合して制御するターゲット RNA であり、Spo5 は Pcr1 を介して Cdc13 の発現を調節していると結論した。

2 章では、*spo5Δ* の胞子形成不能を抑圧する変異として、減数分裂の進行に伴いサイクリンを分解する複合体 APC/C の活性化因子の変異である *fzr1Δ* を見出した。また、*atf1Δ*, *atf21Δ*, *atf31Δ* も *spo5Δ* の胞子形成不能を抑圧することを観察した。以上より、Spo5 や Pcr1 は胞子形成を促進するが、サイクリンを分解へと導く Fzr1 や Atf1, Atf21, Atf31 はこれを抑制し、これらの因子のバランスで減数分裂と胞子形成が進行すると結論した。

材料と方法の章では、本研究で行った実験に関する方法および用いた試薬や菌株について述べられている。

本論文の結果から、Spo5 の核外移行の機構と意義および Spo5 の下流で働く分子機構の一端が明らかとなったことは、配偶子形成の分子機構を研究する上で重要であり、高く評価できる。また、ATF/CREB 因子のうち Pcr1 は胞子形成を促進し、Atf1, Atf21 および Atf31 がそれを抑制することが分かった点は、転写因子による遺伝子発現調節機構と配偶子形成の関連性を研究する上で重要である。以上、本論文の結果は遺伝子発現制御研究および減数分裂研究に新たな知見をもたらしたものである。

なお、本論文の内容は、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、検証および論文執筆を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。