

氏名	なかむら たかひろ 中村隆宏
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	理博第2818号
学位授与の日付	平成16年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	染色体分離必須因子Cut1/Cut2複合体のスピンデル装置に対する機能の解析

論文調査委員 (主査) 教授 柳田充弘 教授 藤吉好則 教授 森和俊

論文内容の要旨

本研究では分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) を材料として、染色体分離に必要な因子である Cut1, Cut2 タンパク質に注目し、このタンパク質の研究を通じて真核生物染色体分離機構の解明を目指した。

分裂酵母 Cut2 タンパク質が分解されることが染色体分離の開始に必要なこと、染色体分離を阻害する機能に加えて Cut2 タンパク質が染色体分離を促進する機能も併せ持つこと、Cut2 タンパク質が Cut1 タンパク質と結合していることが判明していた。そこでこの Cut1, Cut2 複合体の解析を行ったところ、染色体分離に欠損を示す温度感受性 *cut2* 変異株では Cut1 タンパク質と Cut2 タンパク質が結合できないことが明らかとなった。また染色体分離を阻害する非分解型 Cut2 タンパク質は Cut1 タンパク質と結合していた。Cut1, Cut2 タンパク質の局在を詳細に観察することにより、Cut2 タンパク質と結合することにより Cut1 タンパク質がスピンドルに局在すること、Cut2 タンパク質が分解された後も Cut1 タンパク質がスピンドル上に残存することが明らかとなった。またこのスピンドル局在には Cut1 タンパク質の進化上保存された C 末端が必要であり、スピンドルに局在できない変異型 Cut1 タンパク質は機能を失っていた。Cut2 タンパク質は Cut1 タンパク質をスピンドル上にロードすると同時にその活性を抑制しており、Cut2 タンパク質が分解されると Cut1 タンパク質がスピンドル上で活性化し染色体分離が進行すると考えられる。

Cut1 タンパク質 C 末端を発現することにより間期細胞において核の変形および運動・細胞質微小管の構造異常が発生した。ヒト Cut1 タンパク質を発現しても同様の表現型が発生し、機能の低下した変異型 Cut1 タンパク質 C 末端を発現するとこの表現型の発生が抑制されることから、この表現型は Cut1 タンパク質の進化上保存された生理的機能を反映していると考えられた。この表現型は微小管および微小管制御因子 Mtc1 に依存して発生していた。

また、Cut1, Cut2 タンパク質は cAMP 依存性タンパク質キナーゼ PKA やストレス応答に関わる MAP キナーゼ Spc1 などシグナル伝達に関わる因子により制御を受けていた。

本研究では分裂酵母 Cut1 タンパク質がスピンドル装置に作用することによって染色体分離に機能していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

分裂中期から後期へ移行し染色体分離が開始される際には、姉妹染色体間の接着の解除、染色体を分離させる力を発生させるスピンドルの動態の変化などが一斉に開始される。分裂酵母 Cut2 タンパク質は分裂後期開始時に分解されることが報告されており、Cut2 は染色体分離を阻害する活性を有している。同時に *cut2* 変異株も染色体分離に欠損を示すことから Cut2 は染色体分離を促進する機能も担っている。また Cut2 は染色体分離に必要な Cut1 タンパク質と複合体を形成している。そこで申請者は染色体分離機構を解明するために Cut1/Cut2 複合体の解析を行った。

申請者は免疫沈降法・two-hybrid法・シヨ糖密度勾配遠心法を用いて Cut1/Cut2 複合体の解析をすることにより、温度

感受性 *cut2* 変異株中では Cut1/Cut2 複合体が崩壊していることを明らかにした。さらに染色体分離を阻害する非分解型 Cut2 も Cut1 と結合可能であることを示した。この結果から Cut2 が Cut1 と結合することにより染色体分離を促進しており、分裂後移行時に Cut2 が分解されることにより Cut1 が活性化し染色体分離が完了するという新たなモデルが提唱された。

続いて申請者は GFP 融合 Cut1, Cut2 タンパク質を作製しその細胞内局在を詳細に決定した。その結果 Cut1 は Cut2 との結合を介して分裂期スピンドル上に局在することが明らかとなった。また、Cut1 は染色体分離が開始した後の分裂後期スピンドル上にも局在しており、その分裂後期スピンドル局在には Cut1 の進化上保存された C 末端が必要であった。この結果は Cut1 がスピンドル上で機能することにより染色体分離を促進することを強く示唆しており大変興味深い。

また申請者は Cut1 C 末端、ヒト Cut1 C 末端を大量発現することにより分裂酵母細胞質微小管の構造に異常が発生し、核の変形・移動が起こることを発現した。これは分裂酵母・ヒト Cut1 がともにスピンドル・微小管装置に機能することを示しており真核生物の染色体分離機構を考える上で重要な示唆を与えたと言える。

さらに申請者は Cut1/Cut2 複合体がストレス応答に関わる MAP キナーゼ Spc1 により制御されている可能性を示唆する結果を得た。Spc1 が細胞周期制御に関わることは報告されていたがその基質は不明であった。この結果は新たな分裂中期後期移行に関する制御機構の存在を示唆しており大変興味深い。

以上、申請論文において染色体分離に関する分子機構の解析が進められた。得られた知見は、真核生物の染色体分離機構の解明に大きく寄与したと考えられる。よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。