

氏 名 ^{やま}山 ^{した}下 ^{ゆきこ}由起子
 学位(専攻分野) 博 士 (理 学)
 学位記番号 理 博 第 2098 号
 学位授与の日付 平成 11 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 サイクロソーム/APC 複合体による細胞周期 M 期中期・後期遷移
 の制御に関する研究

(主査)

論文調査委員 教授 柳田充弘 教授 永田和宏 教授 西田栄介

論 文 内 容 の 要 旨

分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) を用いて、細胞周期M期中期・後期進行制御機構の研究を行った。細胞周期M期中期から後期への遷移は、一つの細胞が二つに分裂する時期であり、細胞内の構築がすべてリセットされる不可逆的な過程である。この不可逆的な過程には、ユビキチン依存性タンパク質分解が関与しており、細胞周期を終了する(新しい細胞周期に進入する)ためには、サイクリンBやCut 2タンパク質を初めとした特定のタンパク質が、ユビキチン経路依存的に分解されなければならない。これら基質分子のユビキチン化(による分解の促進)を通じて、細胞周期M期中期・後期遷移を司っているのがサイクロソーム/APC複合体である。

本研究では、分裂酵母Cut 4タンパク質が、M期中期・後期遷移に必須であり、サイクロソーム/APC複合体の新規サブユニットであることを明らかにした。また、分裂酵母温度感受性変異株のスクリーニングを行い、サイクロソーム/APC複合体の新規サブユニットCut20, Cut23タンパク質を得ることに成功した。

これらサイクロソーム/APC複合体サブユニットの各変異株では、互いに非常によく似たM期中期停止表現型が観察され、サイクロソーム/APC複合体が崩壊していることが判明した。また、サブユニットタンパク質の変異株では、サイクリンBのユビキチン化がおこらなくなっていることを明らかにした。これらのことから、サブユニット変異株におけるM期中期停止表現型は、サイクロソーム/APC複合体が崩壊しその活性が消失することによるものであると結論した。

また、本研究ではサイクロソーム/APC複合体活性制御機構についても探索し、cAMP/PKA経路が関与していることを示す結果を得た。サイクロソーム/APC複合体サブユニットの多くの温度感受性変異株は、cAMP/PKA経路の不活性化によって相補された。また、cAMP/PKA経路の不活性化によって相補されている状態では、サイクロソーム/APC複合体形成が回復していることが明らかになり、cAMP/PKA経路によるサイクロソーム/APC制御が、複合体形成レベルにおけるものであることが示唆された。もう一つの制御機構として、サブユニットタンパク質のユビキチン化の可能性を示す証拠を得た。Cut 4タンパク質は細胞内でユビキチン化を受けており、それは細胞周期の進行に伴って大きく変動した。Cut 4タンパク質の修飾(ユビキチン化)が顕著になるのはM期、特にサイクロソーム/APC活性が抑制されているような条件下においてであり、不活性化機構としてサブユニットタンパク質のユビキチン化が起きているのではないかと考えた。

以上の結果をもとに、細胞周期M期中期・後期遷移におけるサイクロソーム/APCの役割、その活性制御機構について考察を行った。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

細胞周期M期中期から後期への遷移は、ひとつの細胞がその内容物を複製・倍化し二つの細胞になる上で、不可逆的な

通過点であるため、その進行制御は複雑にして厳密かつ繊細に行われている。申請者は、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) を材料とし、M期中期・後期遷移制御を司る20Sサイクロソーム/APC複合体の構成因子を多数同定し、その活性制御機構に関する多くの興味深い知見とモデルを提出した。

申請者は、まず、分裂酵母Cut 4タンパク質がサイクロソーム/APC複合体のサブユニットであることを明らかにし、*cut4-533* 変異株におけるM期中期・後期遷移欠損が、サイクロソーム/APC複合体の形成異常による、サイクリンBのユビキチン化不全によるものであることを示した。

さらに申請者は、サイクロソーム/APC複合体の新規サブユニットを単離する目的で、分裂酵母温度感受性変異株ライブラリーの系統的なスクリーニングを行い、新規のサイクロソーム/APC複合体サブユニットCut20, Cut23タンパク質を得た。また、既知のサブユニットであるCut 9, Nuc 2タンパク質の新たな変異体も得た。これらのタンパク質の変異株では、ことごとくM期中期・後期遷移に異常が見られること、また、全てのサブユニットタンパク質が進化的にも非常によく保存されたタンパク質であることから、サイクロソーム/APC複合体のM期における必須性が明らかにされた。

続いて申請者は、20Sサイクロソーム/APC複合体の活性制御機構に関して、主に二つのシステムを提唱した。第一は、cAMP/PKA経路によるサイクロソーム/APC複合体の抑制的制御である。*cut4-533* 変異株、*cut20-100* 変異株を初めとして、多くのサブユニット変異株が、cAMP/PKA経路と遺伝学的な相互作用を示すことを見出し、さらに、生化学的にはサイクロソーム/APC複合体形成レベルで見られるものであることを明らかにした。この一連の結果から、cAMP/PKA経路の活性化・不活性化がサイクロソーム/APC複合体の形成・崩壊を通じてその活性を制御している可能性が示された。これは、サイクロソーム/APCとcAMP/PKA経路の関連を示した初めての報告である上、細胞周期進行とcAMP/PKA経路の関与を示した報告としてもきわめて稀な例であり、高く評価できる。

第二は、サイクロソーム/APC複合体の活性制御が、サブユニットタンパク質のユビキチン化によって行われているという可能性の提唱である。サイクロソーム/APC複合体のサブユニットCut 4, Cut23タンパク質が、細胞周期特異的にユビキチン化を受けていることが示された。複雑な制御系を持つと予想される、サイクロソーム/APC活性制御機構のひとつとして、自己ユビキチン化という明快な制御システムの可能性を示唆した意義は非常に重要である。

以上申請論文は、サイクロソーム/APC複合体の新規サブユニットを多数同定し、その制御機構に関しての知見を深め、細胞周期M期中期・後期進行制御におけるサイクロソーム/APC複合体の重要性・優位性を明らかにした。これらは、M期中期・後期進行制御におけるサイクロソーム/APCの重要性を明らかにすることを通じて、M期進行制御の複雑さの中にも、確固たる中枢が存在していることを示したものであり、高く評価できる。よって本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認められる。

なお、主論文に報告されている研究業績と、それらに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。