

氏名	猪飼信康
学位(専攻分野)	博士(生命科学)
学位記番号	生博第133号
学位授与の日付	平成20年3月24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	生命科学研究所統合生命科学専攻
学位論文題目	染色体分配を担うセパレーズ-セキュリンの安定性に必須な AAA ATPase Cdc48

論文調査委員 (主査) 教授 垣塚 彰 教授 石川冬木 教授 松本智裕

論文内容の要旨

染色体が持つ遺伝情報を娘細胞に正確に継承することは、生命にとって極めて重要である。この過程の欠損は、細胞の死滅や多細胞生物のガン化などの障害を発生させる。遺伝情報を娘細胞に正確に伝達する分子機構のなかでも、本研究では特に染色体分配がいかにして制御されているかに注目して、真核生物である分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* をモデル生物とした研究を行った。

染色体分配に必須な因子であるセパレーズ-セキュリン複合体の中のCut1/セパレーズと遺伝的相互作用する変異株をスクリーニングし、*cdc48-353*変異株を得た。また、別の方法で*cdc48-427*変異株を得た。Cdc48/VCP/p97はAAA型ATPaseのひとつであり、ヒトから酵母、古細菌にまで高度に保存されたATPaseである。プラスミド導入実験および二重変異株の解析により、*cdc48+*遺伝子はセパレーズ*cut1+*遺伝子およびセキュリン*cut2+*遺伝子の両方と強く遺伝的相互作用することを示した。*cdc48-427*変異株および*cdc48*遺伝子破壊株は核分裂異常や細胞形態異常などの多面的な表現型を呈したのに対して、*cdc48-353*変異株はM期での姉妹染色分体分配を正常に行うことができず、archery-bow表現型およびcut表現型のみを呈して致死となった。また、*cdc48-353*変異株のG1期細胞あるいはG2期細胞を制限温度でリリースすると、どちらも、最初のM期において致死となる。さらに、*cdc48-353*変異株ではM期にCut1タンパク質が減少し、その高温感受性はpCUT1によって強く相補され、また*cdc48-353*変異株と*cut1*変異株が呈すarchery-bow, cut表現型は互いに酷似している。これらの結果より、Cdc48の機能欠損はM期でのCut1タンパク質の減少を引き起こし、このため姉妹染色分体分配を正常に行うことができないと考えられた。また、*cdc48-353*変異を遺伝的背景に持つ細胞では、ユビキチン化Cut2タンパク質が特異的に減少していることを示した。さらに、質量分析装置を用いて、Cdc48タンパク質と結合する新規タンパク質としてUbxタンパク質を見だし、*ubx*遺伝子がCut1タンパク質の量を増加させることを示した。

申請者は、以上の結果とCdc48の現在知られている分子機能をふまえて、Cdc48がUbxタンパク質とユビキチン化Cut2タンパク質を介して、Cut1タンパク質を安定化することで、正常な染色体分配を保証しているという作業仮説を提唱した。

論文審査の結果の要旨

染色体分配機構に関わる因子として、セパレーズ-セキュリン複合体が知られている。しかし、セパレーズ-セキュリン複合体がいかにして制御されているかに関する知見については不明な点が多かった。申請者は分裂酵母セパレーズ/*cut1+*プラスミドを用いたスクリーニングを行うことで、分裂酵母*cdc48-353*変異株の高温感受性が*cut1+*プラスミドによって相補されることを見出した。Cdc48/VCP/p97は、ユビキチン・プロテアソーム系タンパク質分解、膜融合、転写活性、細胞周期制御、ERAD(小胞体関連タンパク質分解)などの多様な機能を果たすことが知られているAAA ATPaseである。しかしながら、Cdc48の染色体分配に関わる分子機構やCdc48とセパレーズ/Cut1の遺伝学的相互作用はどの生物種においても報告されていなかった。

申請者は、*cdc48-353*変異株はM期での姉妹染色分体分配を正常に行うことができず、致死となること、そして致死となるM期においてCut1タンパク質が減少することを見いだした。これらの結果より、Cdc48の機能欠損はM期でのCut1タンパク質の減少を引き起こし、このため姉妹染色分体分配を正常に行うことができないことを提示した。また、プロテアソーム変異株を用いた実験から、このCut1タンパク質の減少はプロテアソーム依存的であることを示した。さらに、*cdc48-353*変異を遺伝的背景に持つ細胞では、ユビキチン化Cut2タンパク質が特異的に減少していることを提示した。最後に、Cdc48タンパク質と結合する新規タンパク質としてUbxタンパク質を見だし、*ubx*遺伝子がCut1タンパク質の量を増加させることを示した。

以上の結果から、申請者はCdc48がCut1タンパク質を安定化することで、正常な染色体分配を保証していると結論した。そして、Cdc48の変異部位が六量体の中央の穴に面する高度に保存された残基であることもふまえて、その安定化はUbxタンパク質とユビキチン化Cut2タンパク質を介して行われていることを提唱した。本研究では、1996年に分裂酵母でセパレーズ-セキュリン複合体が同定されて以来、初めてこの複合体の両方の安定化に関わるタンパク質としてCdc48タンパク質を同定したものである。この発見は、染色体分配におけるセパレーズ-セキュリン複合体の制御機構の解明に大きく貢献できる仕事である。よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものとして認めた。さらに、平成20年1月24日、論文内容とそれに関連した諮問の結果、合格と認めた。