

氏 名	ゆ 湯 浅 達 郎
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2934 号
学位授与の日付	平 成 17 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	セキュリン・セパレーズ・コンデンシンと相互作用する新規因子の探索と解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 森 和 俊	教 授 永 田 和 宏	助教授 青 山 卓 史
--------	--------------------	-------------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のゲノムは4824の遺伝子を含み、そのうちおよそ850の遺伝子が生育に必須であると予想されている。我々はM期における染色体の正確な分離分配に必要な遺伝子についての理解を深めるため、これらの遺伝子と遺伝学的相互作用する因子を取得するための新規スクリーニング法である Brute Force Strategy B を開発した。このスクリーニング法は、1015株からなる分裂酵母高温感受性 (ts) 変異株ライブラリーの1株ずつにプラスミド（それぞれのプラスミドには染色体の分離分配に必要な遺伝子が含まれている）を網羅的に導入し、プラスミドの導入によって許容温度や制限温度での生育に変化が見られる変異株を選抜するというものである。我々が用いたのは、姉妹染色分体間結合を切断するセパレーズ Cut1, その阻害因子セキュリン Cut2, 染色体凝縮に必要なコンデンシンの SMC サブユニットである Cut3 と Cut14, 動原体に結合しスピンドルの動態に影響を与える Dis1 と Mtc1/Alp14, 姉妹染色分体間結合に必要なアドヘリン Mis4, そしてヒストン H3-H4 のペアと H2A-H2B のペアの遺伝子のいずれかが含まれる 9 種類のプラスミドである。我々はのべ103株において生育の差を観察し、50におよぶ遺伝子間相互作用を見だし、染色体の分配に関わる遺伝子が DNA 複製・タンパク質分解・アクチンの制御・細胞壁合成などに関わる遺伝子群と形成している大規模なネットワークを描出することができた。特にセパレーズ Cut1 においては、Cut1 が DNA 複製に必要な遺伝子と相互作用すること、および AAA 型 ATPase である Cdc48 が Cut1 タンパク質の安定化因子として働いていることを発見した。そして意外なことに、Cut1 と TORC2 (Tor complex 2) や細胞壁合成に必要な α -グルカン合成酵素との遺伝学的相互作用も見いだした。これらの結果は、Cut1/セパレーズの機能と制御機構についての新たな視点を我々に与えるものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

我々を含む真核生物は高度に制御された細胞周期を持ち、特にM期における染色体の均等な分配は細胞の生存に欠かすことができない。均等分配に失敗した場合は、正確な遺伝情報の伝達の欠損によって細胞レベルのみならず組織・個体レベルの致死的なイベントに発展してしまう可能性もある。染色体が均等に分配されるためには、染色体凝縮や姉妹染色分体の分離・分配などの細胞機能が確実に、かつ統合的に制御されて遂行される必要がある。

申請者の所属する研究室では、モデル生物である分裂酵母を用いて、姉妹染色分体間結合を切断する働きがあるプロテアーゼであるセパレーズをはじめとして、M期の染色体分配を遂行する因子が多数取得されてきたが、最近になってそれらの因子が単に染色体分配だけではなく、DNA複製や修復など、他の生物現象にも関与する例が見つかってきた。また、近年、多数の生物の全ゲノム配列が解読され、それらの情報を利用したポストゲノム的な研究が盛んに行われている。分裂酵母も例外でなく、その全ゲノムの配列が解読されている。

今回申請者は、分裂酵母においてもポストゲノム的な大規模なスクリーニングを行って、セパレーズなどの従来はM期に働いていると思われていた遺伝子産物と相互作用するような新規因子を取得したいと考え、Brute Force Strategy B と呼

ぶ新規スクリーニング法を開発した。そのスクリーニングは、分裂酵母の高温感受性変異株が約1000株含まれる変異株ライブラリーの変異株ひとつひとつに、染色体の分配に必須な遺伝子を挿入したプラスミドを網羅的に導入していき、様々な温度での生育の変化を記録するという大規模且つ包括的な方法である。申請者が9種類のプラスミドを用いてスクリーニングを行い、のべ103におよぶ変異株で生育に変化が出ることを見いだし、最終的に50の遺伝子間相互作用を見つけることに成功したことは、今後の研究の発展を考えると高く評価できる。

さらに得られた遺伝子間の相互作用を図示することによって、セパレーズなどがDNA複製・タンパク質分解系・アクチンの制御・細胞壁の合成などに関わる遺伝子と相互作用していることが明らかになり、M期における事象を解明する上で重要な知見が得られたと考えられる。

また申請者は、高等動物ではVCPという別名で知られるAAA type ATPaseのCdc48が、分裂酵母のセパレーズの安定化因子として働いていることなどを発見し、セパレーズの新しい機能や制御の解明に大きく貢献した。

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る。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。