

氏 名	たて べ ひさし 建 部 恒
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2361 号
学位授与の日付	平 成 13 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	細胞周期 M 期後期進行に必須な分裂酵母 Cut8 とタンパク質分解酵素 複合体 26S プロテアソーム細胞内局在の研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 柳 田 充 弘 教 授 永 田 和 宏 教 授 井 口 八 郎

論 文 内 容 の 要 旨

細胞周期 M 期後期進行には、全ての生物種において、セキュリンおよび M 期サイクリンと呼ばれる 2 種類のタンパク質の分解が必須である。セキュリンの分解によりセパリンと呼ばれるタンパク質が活性化して姉妹染色体の分離、分配が起こる。一方 M 期サイクリンの分解により Cdc2 キナーゼ活性が低下し、M 期スピンドルから間期細胞質微小管への転換、染色体の脱凝縮といった一連の事象が起こり、細胞周期 M 期から脱出して次の G1 期へと細胞周期は進行する。セキュリンと M 期サイクリンが同一のユビキチン依存性タンパク質分解機能によって M 期後期の同時期に分解されることで、姉妹染色体分配と細胞周期 M 期からの脱出が同時期に協調的に進行することが可能となる。

ユビキチン依存性タンパク質分解は、基質タンパク質へのポリユビキチン化とポリユビキチン化された基質タンパク質の分解の 2 つの過程よりなる。ポリユビキチン化とは基質タンパク質にユビキチンと呼ばれるタンパク質複数個からなるポリユビキチン鎖を付加することを言う。ポリユビキチン化された基質タンパク質は 26S プロテアソームと呼ばれるタンパク質分解酵素複合体によって分解される。

本研究は、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* を材料として、細胞周期 M 期後期進行に必須な因子であると考えられていた分裂酵母 Cut8 に着目し、その M 期後期進行に果たす機能についての解析を行ったものである。

申請者は、まずはじめに *cut8* 遺伝子破壊株を作製し、*cut8* 遺伝子破壊株は温度感受性の生育を示し、*cut8* 遺伝子は高温 (33, 36°C) での生育に必須であることを明らかにした。申請者は、*cut8* 変異体の表現型についてさらに詳細な解析を行い、*cut8* 変異体は制限温度下で姉妹染色体分配に欠損を示すこと、および、スピンドルを持つ M 期細胞の割合が増加していることから細胞周期 M 期進行の遅延が起きていると考えられることを明らかにした。このことから、*cut8* 遺伝子は高温での M 期後期姉妹染色体分配に必須であり、かつ細胞周期 M 期進行に寄与していることが明らかになった。

次に、申請者は、*cut8* 変異体で見られる姉妹染色体分配欠損、M 期進行遅延といった表現型を説明する現象として、*cut8* 変異体では M 期後期に Cdc13 タンパク質 (分裂酵母の M 期サイクリン) のポリユビキチン化は正常に起こっているものの、核に局在する Cdc13、Cut2 (分裂酵母のセキュリン) 両タンパク質の分解速度が著しく低下することを見出した。この結果から、*cut8* 変異体では、Cdc13 タンパク質分解欠損により細胞周期 M 期後期進行遅延が、Cut2 タンパク質分解欠損により姉妹染色体分配欠損が引き起こされることが示唆された。

さらに興味深い発見として、申請者は、分裂酵母野生型では細胞周期を通じて核に局在する 26S プロテアソームが、*cut8* 変異体では核に局在できないことから、26S プロテアソームの核局在には *cut8* 遺伝子機能が必須であることを明らかにした。野生型では 26S プロテアソームが核に富んでいるため核内の Cdc13、Cut2 タンパク質が M 期後期に急速に分解されるが、*cut8* 変異体では 26S プロテアソームが核内にほとんど存在しないため Cdc13、Cut2 タンパク質の分解速度が著しく低下すると考えられる。

本研究以前には、26S プロテアソームによるポリユビキチン化タンパク質の分解を制御する機構の存在はほとんど知られ

ていなかった。しかしながら本研究によって、分裂酵母では Cut8 タンパク質による 26S プロテアソームの核局在制御がポリユビキチン化 Cdc13, Cut2 タンパク質の分解に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

近年の細胞周期研究および M 期姉妹染色体分配機構の研究の成果として、細胞周期 M 期後期進行および姉妹染色体分配にはユビキチン依存的なタンパク質分解機構の存在が必須であることが明らかとなってきた。ユビキチン依存的なタンパク質分解機構は大きく分けて、分解を受ける基質タンパク質に進化的に高度に保存されているユビキチンと呼ばれるタンパク質を複数個付加するポリユビキチン化と呼ばれる過程と、ポリユビキチン化された基質タンパク質を分解する過程の 2 つに分けられる。基質タンパク質のポリユビキチン化は E1, E2, E3 と呼ばれる 3 種類の酵素活性によって担われており、一方ポリユビキチン化タンパク質の分解は 26S プロテアソームと呼ばれるタンパク質分解酵素複合体による。M 期後期に必要なユビキチン依存的タンパク質分解機構においては、ポリユビキチン化に関わる因子の一つである E3 のみが細胞周期特異的な制御を受けており M 期後期に活性化し、一方他の因子、E1, E2, 基質タンパク質、および 26S プロテアソームは特に制御を受けていないと考えられていた。

申請者は、分裂酵母 Cut8 の研究を通じて、26S プロテアソームの局在制御という、M 期後期に必要なユビキチン依存的タンパク質分解機構においてこれまでに知られていない新たな制御機構の存在を見いだした。申請者は、分裂酵母 *cut8* 変異体が M 期後期に必要なユビキチン依存的タンパク質分解に欠損を示すことを、細胞を生きた状態に保って GFP（緑色蛍光タンパク質）と基質タンパク質の融合タンパク質を経時観察するという本研究で開発された新たな手法を用いる等して明確に示すとともに、分裂酵母野生型では核に富む局在を示す 26S プロテアソームが *cut8* 変異体では核にほとんど局在せず細胞質に拡散することを見出した。*cut8* 変異体では 26S プロテアソームが核にほとんど存在しないため、核に富む M 期サイクリン、セキュリンを効率的に分解することができなくなっていると考えられる。

申請者の見出した、分裂酵母 Cut8 による 26S プロテアソームの核局在制御を通じた M 期後期に必要なユビキチン依存的タンパク質分解機構の制御機構は、細胞周期 M 期後期制御機構としてこれまでに知られていない新奇でかつ必須なものであるというばかりでなく、同時に、これまでは制御を受けていないと基本的に考えられていた 26S プロテアソームに対する制御機構として非常に興味深いものである。様々な種、細胞において、M 期後期以外の状況においても、26S プロテアソームの局在制御を通じて、ユビキチン依存的なタンパク質分解の制御が行われている可能性も十分に予想される。今後の研究において、分裂酵母 Cut8 が 26S プロテアソームを局在制御する分子機構の解明が期待される。

本研究で得られた成果は、今後の細胞周期研究、M 期姉妹染色体分配機構研究、ユビキチン依存的タンパク質分解機構研究の発展に大きく寄与するものと考えられる。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る。

平成13年2月5日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。