

Title	A budding yeast gene participate in stabilization of microtubules : isolation and analysis of mutant and analysis of gene structure.
Author(s)	平賀, 信一郎
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39916
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	平 賀 信 一 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 3 4 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生理学専攻
学 位 論 文 名	A budding yeast gene participate in stabilization of microtubules : isolation and analysis of mutant and analysis of gene structure. (出芽酵母の微小管安定化に関与する遺伝子：変異株の単離・解析と 遺伝子構造の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小川 英行 (副査) 教 授 森田 敏照 信州大学教授 伊藤 建夫 助教授 升方 久夫

論 文 内 容 の 要 旨

真核細胞において、核の持つ遺伝情報を娘細胞に正しく伝えるためには、細胞周期中の主要なイベント、DNA複製、核分裂、細胞質分裂が一細胞周期中に一回ずつ、正しい順序で起きる必要がある。そのためには、これらの各イベントの進行だけではなく、各イベント間の共役のための機構が必要であると考えられるが、そのような機構に関してはまだ明らかになっていない。

私は、DNA複製、核分裂、細胞質分裂等の共役を通じて遺伝情報の正確な分配に関与する遺伝子の単離を目的として、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いて、制限温度下で遺伝情報の正確な伝達が損なわれる温度感受性変異株を単離した。

フローサイトメトリーを用い、DNA含量の異常を指標として、制限温度下で娘細胞への遺伝情報の正確な伝達が損なわれる変異株の検索をおこなった。約40,000の温度感受性変異株の中から制限温度下でDNA含量が増加した細胞を生じる変異株30株を得た。さらにそれらを形態により分類し、(1)核分裂、および(2)核分裂と細胞質分裂の共役の両方に欠損を持つと考えられる2つの変異株 (ts54, ts500) を単離し、その解析をおこなった。

抗チューブリン抗体を用いて、制限温度下での ts500細胞内の微小管を観察したところ、微小管は脱重合しており、細胞あたり1個のドット状の構造(おそらく紡錘極体)しか検出されなかった。さらに、許容温度下でヒドロキシ尿素を用いて紡錘系微小管形成後に細胞周期を停止させ、その後、制限温度に移すことにより、すでに形成された微小管の制限温度での構造変化を調べたところ、すでに形成されていた微小管も同様に脱重合していた。これらの観察から、ts500変異株は微小管の維持に欠損を持つことが示された。そこで、ts500変異株を *mtml* (microtubule maintenance) 変異株、ts500変異株で変異を生じている遺伝子を *MTMI* 遺伝子と名付けた。一旦形成された微小管の維持に必要であることが明らかに示されたのは、この *MTMI* 遺伝子が最初である。

MTMI 遺伝子は出芽酵母の生育に必須の遺伝子であり、888アミノ酸からなる蛋白をコードしていた。*MTMI* 遺伝子は分裂酵母の姉妹染色体の分離に必要な *dis1+* 遺伝子と相同性を有していた。また、ヒト cDNA にも相同性をもつものがあった。*MTMI* 遺伝子産物は細胞内での微小管の重合/脱重合の制御に関与する因子ではないかと考えている。

mtml 変異株は制限温度下で一次的に G 2 期で細胞周期を停止するが、その後、無核細胞および DNA 含量が増加した細胞が生じることから、*mtml* 変異株は微小管の形成を監視するチェックポイント機構にも異常を持つことが示

唆された。

ts54変異株の温度感受性を相補する遺伝子を単離し、その塩基配列を調べたところ、SPBの複製に必要なSer/Thr/TyrキナーゼをコードするMPS1/RPK1遺伝子と同一であった。また、最近MPS1/RPK1の微小管の形成をモニターするチェックポイント機構への関与も示唆されている。

論文審査の結果の要旨

染色体の等配分や核分裂は細胞分裂の核心をなす仕組みである。その仕組みは、微小管の消長に依存している。平賀君は出芽酵母を用いて、高温条件下で倍数性の細胞と無核の細胞を生じる変異株を分離し、それが微小管の安定性に関与する新しい必須遺伝子(MTM1)の変異によることを明らかにした。この遺伝子は、888アミノ酸からなり、分裂酵母の姉妹染色体の分配に関与するdis1+蛋白質のアミノ酸配列と相同性を持つことが明らかになった。この遺伝子の発見は細胞分裂機構の研究に新しい局面を開くもので、博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。