

Title	Analysis of chromosome dynamics during meiosis in living cells of <i>S. cerevisiae</i>
Author(s)	萩原, 亜紀
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39957">https://hdl.handle.net/11094/39957</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	萩原 壘 紀
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 12957 号
学位授与年月日	平成9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	Analysis of chromosome dynamics during meiosis in living cells of <i>S. cerevisiae</i> (出芽酵母生細胞における減数分裂期の染色体動態)
論文審査委員	(主査) 教授 小川 英行  (副査) 教授 杉野 明雄 教授 平岡 泰

#### 論文内容の要旨

真核生物にとって減数分裂期は有性生殖による種の多様化を生み出す重要な時期である。減数分裂期ではDNA複製のあとに、父方と母方の染色体の対合と、組換えが起り、そして第一および第二減数分裂という2回の異なる機構によって染色体が分配され、配偶子が形成される。減数分裂期の染色体動態や構造変化の分子メカニズムを解明することは減数分裂期の重要な課題である。申請者は染色体構造変化の分子メカニズムを明らかにする目的で、分子生物学的に最も解析の進んだ出芽酵母を材料とし、生細胞での核とテロメアの詳細な局在変化を減数分裂期を通して連続観察した。

まず核運動を観察するために、カエルの核蛋白質Nucleoplasmin とクラゲの蛍光蛋白質Green fluorescent protein(GFP)の融合蛋白質を酵母細胞内で発現させて核に移行させ、恒温室内にある顕微鏡下で液体培養して連続観察した。

減数分裂期の核はDNA複製後に変形を始め、ロッキング様の動きを見せた。この動きは体細胞分裂時には観察されなかった。この核の動きは第一減数分裂が始まる前まで続き、その間に核は膨潤をはじめ、直径が1.3  $\mu\text{m}$  から1.8  $\mu\text{m}$  へ増加することがわかった。この膨潤は染色体の対合形成時期と一致することがわかった。その後第一減数分裂直前になると、核は1-2つの突起を出し、その直後に二つの核に分配された。二核に分かれた核は、再び近接し、二核のうち一核が両方向へ分配を始めると、もう一核も同様に分配を始め、同調かつ平行して核が伸長して分配を続けた。

次にテロメアの挙動を調べるために、テロメア結合蛋白質RAP1遺伝子をGFP遺伝子に融合させて酵母内で発現させ、Rap1-GFP融合蛋白質の局在の連続観察を行なった。その結果、Rap-1はクラスターを形成し、そのクラスターは減数分裂前期の間、核内で規則性のない動きを示して位置を変えることがわかった。次にテロメアのクラスターの個数の変化を、生細胞を用いた3次元解析と細胞を展開させた固定細胞による観察によって調べた。その結果減数分裂期では、テロメアは分裂期移行後0時間と1時間後で平均5個のクラスターを形成し、その後染色体対合が始まるとクラスターどうしの結合が弱くなり、染色体の対合が進むにつれてクラスターがほどけて、約8つのクラスターに分かれることがわかった。

これらの結果より、出芽酵母では1) 減数分裂前期において核が小刻みに動き、2) 対合形成時には核が膨潤することがわかった。これらの結果は染色体の動的な構造変化を強く反映することが示唆された。また染色体末端テロメ

アは、3) 減数分裂前期で、複数の集合体が核内での位置を変え、4) さらに染色体の対合に伴って集合体数を増加させることが示された。これらの観察は減数分裂前期の染色体構造変化の解析に非常に大きな知見を与えるものと思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

減数分裂期における染色体の構造変化と動態の解析は、染色体の組換えや相同染色体対合・分配に密接に関連することから注目される。申請者はこの変化と動態の分子機構を解明する基礎を築くために、分子遺伝学的解析のよく進んだ出芽酵母を材料に、核蛋白質及びテロメア-結合蛋白質と蛍光蛋白質GFPとの融合蛋白質をそれぞれ作り、核の動き及び染色体末端の動きを、生細胞中で連続観察した。それぞれの分裂時期に特徴的な動きとそのスピード、集合と離散の記録は、細胞分裂における核とテロメアの動きを明らかにしたのみならず、それらの分子的機構解明の為の新局面を確実に開いたもので、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。