



Title	Meu10 is required for spore wall maturation in Schizosaccharomyces pombe
Author(s)	東岸, 任弘
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43771">https://hdl.handle.net/11094/43771</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">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	とう 東 がん 岸 たか 任 ひろ 弘
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 4 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Meu10 is required for spore wall maturation in <i>Schizosaccharomyces pombe</i> (分裂酵母 Meu10は孢子壁の成熟に必要である)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野 島 博  (副査) 教 授 杉 野 明 雄 教 授 品 川 日 出 夫

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 目的

我々は分裂酵母を用いて減数分裂期や孢子形成期の制御機構の解明を目的として減数分裂期や孢子形成期に特異的に発現する遺伝子群の包括的単離を行ってきた。本研究ではその中の一つである *Meu10<sup>+</sup>* 遺伝子について詳細な機能解析を行った。

### 方法ならびに成績

*meu10<sup>+</sup>* 遺伝子は窒素源枯渇4時間以降に発現が誘導されその mRNA はおよそ2.2kb、416アミノ酸をコードする。ホモロジーサーチから分裂酵母で1つ、出芽酵母に4つのホモログが存在することが明らかとなった。これまでにその中の1つである出芽酵母 *SPS2* が孢子形成に関与することが報告されている。*meu10<sup>+</sup>* 遺伝子を破壊し、その表現型を観察した。ヨウ素染色試験により *meu10* 破壊株は野生型株と同様、もしくはそれ以上に染色されたが、顕微鏡観察により正常な孢子は観察されなかった。これらの結果は孢子壁の構成成分であるアミロース様物質は生産されているが、孢子は形成できないことを示している。蛍光顕微鏡により細胞の形態および核の挙動を観察したところ、*meu10* 破壊株は第二減数分裂の完了する8時間までは野生型株とほぼ同様の挙動を示すが、その後孢子形成期において孢子壁の形成が見られず、核の形態も崩れるなど、野生型株と顕著な差が見られた。正常な形態の核を持つ細胞と異常な形態の核を持つ細胞の割合を測定した結果、10時間以降、異常な形態をした核を持つ細胞の割合が増加していることがわかった。電子顕微鏡観察により、窒素源枯渇12時間後の *meu10* 破壊株を観察したところ、孢子壁がぶ厚くなり、孢子内の細胞質が流れ出すような形態が観察された。窒素源枯渇22時間後では孢子の形態を留めていなかった。

Meu10-GFP インテグラント株を作成し、Meu10-GFP の細胞内の挙動を観察したところ、第二減数分裂期の頃からシグナルが現れ、その後、孢子膜、もしくは孢子壁付近に局在し、その後はっきりとした4つのリングが観察された。孢子がはじけた後、細胞質内に顆粒状に局在することが観察された。抗 GFP 抗体によりウエスタンブロッティングを行ったところ、ノザンの結果と同調するように8、10時間で発現がピークとなり、18、24時間で GFP のみのサイズのバンドが検出された。このことから細胞質内の顆粒は Meu10 が分解され、GFP のみの蛍光であることが予想された。

金コロイド法により1,3-β-グルカンの局在を観察したところ、野生型株では孢子壁の内側に局在しているが *meu10*

破壊株では孢子壁全体に散在していた。このことは1,3- $\beta$ -グルカンの局在に Meu10が必要であることを示す。一方で1,3- $\beta$ -グルカンの合成酵素である *bgs2*破壊株、キチンの合成酵素である *chs1* 破壊株において Meu10-GFP の局在を調べたところ、Meu10-GFP は孢子壁に局在していることが明らかとなった。これらの結果から Meu10-GFP の孢子壁への局在は1,3- $\beta$ -グルカン、キチンは必要でないことが明らかとなった。Meu10のN末端は哺乳類のインシュリンレセプターの相同領域が、C末端は膜貫通モチーフが保存されていた。これらの領域を破壊した変異株はいずれも正常な孢子形成は見られなかった。このことはこれらの領域が孢子形成に必須であることを示している。

#### 総括

以上の結果から、Meu10は孢子壁に局在し、その形成、維持に必須であると結論した。また、この結果から、我々が単離している他の *meu* 遺伝子群も同様に減数分裂・孢子形成に重要な役割を果たすであろうことが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は細胞周期の一形態である減数分裂の制御機構の解明を目的として、分裂酵母をモデルとして減数分裂期特異的に発現する遺伝子群の包括的単離を行い、それらの遺伝子群の一つである *meu10* 遺伝子に着目し解析を行ったものである。本研究では *meu10* 遺伝子の遺伝子破壊株を作成して表現型の観察を行うなどの様々な分子細胞生物学的解析を行った結果、Meu10蛋白質が減数分裂を円滑に進行させて正常な配偶子を形成させるために重要な役割を果たしていることを解明した。生殖細胞形成異常は臨床的にも重要な意味を持っており、生殖細胞形成の制御機構についての基礎的なデータを提供した本研究は意義深く、博士の学位に値すると考える。