

Title	Overlapping omt1+ and omt2+ genes are required for spore wall maturation in <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
Author(s)	柿原, 嘉人
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45214
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	柿原嘉人
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第18033号
学位授与年月日	平成15年5月30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	Overlapping <i>omt1</i> ⁺ and <i>omt2</i> ⁺ genes are required for spore wall maturation in <i>Schizosaccharomyces pombe</i> (分裂酵母のオーバーラップ遺伝子 <i>omt1</i> ⁺ と <i>omt2</i> ⁺ は、胞子壁成熟に必要である)
論文審査委員	(主査) 教授 野島 博 (副査) 教授 品川日出夫 教授 杉野 明雄

論文内容の要旨

〔目的〕

オーバーラップ遺伝子とは、同じ DNA 領域に重複して存在する複数の遺伝子のことであり、真核生物のゲノムではこれまでに報告例が少なく、その発現機構や存在意義については、未だ解明されていない。

我々は、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) の減数分裂期特異的の差分化ライブラリーのスクリーニングによって、新規のオーバーラップ遺伝子 *omt1*⁺、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ (overlapping meiotic transcripts) 遺伝子を見出した。本研究では、これらの *omt*⁺ 遺伝子群の発現様式と遺伝子産物の解析を行い、真核生物における転写単位のオーバーラップ現象について解明することを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

omt⁺ 遺伝子群の発現解析

omt⁺ 遺伝子群の発現解析の結果、*omt1*⁺ と *omt2*⁺、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ 転写単位がそれぞれ重複していることを見出した。さらに、*omt1*⁺ 遺伝子群の発現について、減数分裂の進行に必須の転写因子である Mei4p に依存性があるかどうか調べたところ、*omt1*⁺ 遺伝子の発現のみが Mei4p に依存していた。

そして、各遺伝子に対応する cDNA クローンの配列解析から、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ は互いにアンチセンス方向に、そして、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ は互いにセンス方向に重複して転写されていることが明らかとなった。さらに、これらの *omt*⁺ 遺伝子は、poly (A) の付加位置にゆらぎが見られた。

また、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ 遺伝子の発現解析の結果から、*omt1*⁺ 遺伝子の発現が *omt2*⁺ 遺伝子の発現を抑制しているという可能性が考えられたことから、*omt1*⁺ 遺伝子を恒常的に過剰発現させて、*omt1*⁺ 転写産物が *omt2*⁺ 遺伝子の発現を抑制するかどうか調べたが、抑制効果は見られなかった。

omt⁺ 遺伝子群の機能解析

それぞれの *omt*⁺ 遺伝子について破壊株を作成し、表現型の観察を行ったところ、全ての破壊株において減数分裂

は正常に進行したが、*omt1*⁺ 破壊株と *omt2*⁺ 破壊株では孢子形成に異常が観察された。特に孢子壁の構成成分であるキチンや 1,3-β-グルカンの局在に異常が見られた。また、両破壊株において、孢子壁形成に関与することが知られている *Meu10p* の局在も異常であった。

Omt1p と *Omt2p* の局在について調べた結果、*Omt1p* は孢子壁の外側に、*Omt2p* は孢子壁の内側に存在することが明らかとなった。

[総括]

本研究では、まず、分裂酵母の減数分裂期特異的な差別化ライブラリーのスクリーニングによって、新規のオーバーラップ遺伝子 *omt1*⁺、*omt2*⁺、*omt3*⁺ を見出した。

発現解析の結果、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ は互いにアンチセンス方向に、そして、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ は互いにセンス方向に転写されていた。また、これらの *omt*⁺ 遺伝子は、poly (A) の付加位置にゆらぎが見られたことから、分裂酵母の減数分裂期では転写終結の制御が不安定であることが示唆された。

遺伝子破壊株の表現型解析の結果、*omt1*⁺、*omt2*⁺、*omt3*⁺ は減数分裂期における機能は観察されなかったが、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ は孢子形成に関与していることが明らかとなった。さらに詳細な細胞生物学的解析によって、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ は孢子壁の成熟過程に必須な遺伝子であり、*Omt1p* は孢子壁の外側に、*Omt2p* は孢子壁の内側に存在することが明らかとなった。

以上の結果から、本研究によって、新規のオーバーラップ遺伝子である *omt1*⁺ と *omt2*⁺ は転写単位が重複しているものの、互いに遺伝子発現を干渉することなく、機能性タンパク質として孢子形成に関与していることが示された。

論文審査の結果の要旨

重複遺伝子群とは、同じ DNA 領域に重複して発現されている複数の遺伝子を意味する。真核生物のゲノムではこれまでに報告例が少なく、その発現機構や存在意義については、未知の部分が多く残されている。本研究は、分裂酵母において減数分裂期特異的な新規の重複遺伝子群として *omt1*⁺、*omt2*⁺、*omt3*⁺ (overlapping meiotic transcripts) を見出し、遺伝子産物の解析と、重複遺伝子の生物学的意義についての解明を目指したものである。

それぞれの *omt*⁺ 遺伝子破壊株について、表現型解析を行った結果、*omt1*⁺ 破壊株と *omt2*⁺ 破壊株の孢子壁は、構成成分の蓄積が異常であり、未成熟な孢子を形成した。また、*Omt1p* は孢子壁の外側に、*Omt2p* は孢子壁の内側に存在し、別々の場所で孢子壁形成に関与していることが明らかとなった。また *omt*⁺ 遺伝子群の発現解析の結果、*omt1*⁺ と *omt2*⁺、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ の転写単位がそれぞれ重複し、*omt1*⁺ と *omt2*⁺ は互いにアンチセンス方向に、そして、*omt2*⁺ と *omt3*⁺ は互いにセンス方向に重複して転写されていることが明らかとなった。さらに、これらの *omt*⁺ 遺伝子は、転写終結制御が不安定であることが示された。また、*omt1*⁺ 遺伝子の発現が *omt2*⁺ 遺伝子の発現を抑制しているという可能性について検討を行ったが、抑制効果は見られなかった。以上の結果から、本研究によって、新規の重複遺伝子である *omt1*⁺ と *omt2*⁺ は転写単位が重複しているものの、互いに遺伝子発現を干渉することなく、機能性タンパク質として孢子形成に関与していることが示された。

このような、遺伝子の重複現象は、遺伝子発現制御機構の研究に新たな視点を与えるものであり、当該分野に将来の新たな展開をもたらす可能性がある。それゆえ、本研究は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。