

Title	分裂酵母における減数分裂特異的なコイルドコイルタンパク質群の機能解析
Author(s)	齊藤, 貴宗
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46489
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	い 藤 貴 宗 齊 藤 貴 宗
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 20033 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	分裂酵母における減数分裂特異的なコイルドコイルタンパク質群の機能解析
論文審査委員	(主査) 教授 野島 博 (副査) 教授 平岡 泰 教授 篠原 彰

論 文 内 容 の 要 旨

減数分裂は二倍体細胞から一倍体の生殖細胞を生み出す特殊な細胞分裂である。体細胞分裂前期とは異なり、第一減数分裂前期では相同染色体が還元分配に備えて対合し、組換えによるキアズマ形成が行われる。従来、私の所属する研究室では cDNA サブトラクション法により、分裂酵母の減数分裂特異的に発現する *meu* 遺伝子群の包括的な単離と機能解析が行われ、その中で相同染色体の対合と組換えに必要な *Meu13* が見出されていた。*Meu13* が有するコイルドコイルモチーフは蛋白の相互作用に必要とされることから、*Meu13* の相互作用の相手の同定を含めた、減数分裂特異的なコイルドコイル蛋白質群の単離と機能解析を試みた。ゲノムデータベースを基にしたノーザン解析により、コイルドコイルモチーフを有し、かつ減数分裂特異的に発現する機能未知な遺伝子 (*mcp*; meiotic coiled-coil protein) を 7 個同定した。そのなかで第一分裂前期に発現のピークがある *mcp7⁺*、*mcp6⁺*、*mcp5⁺* について機能解析を行った。

Mcp7 は出芽酵母 *Mnd1* とホモロジーがありその局在はホーステイル期の核にありクロマチンに結合していた。免疫沈降で *Mcp7* が *Meu13* と *in vivo* で相互作用する事を確かめた。*mcp7* 破壊株では組換え頻度の低下、組換えチェックポイント依存的な第一分裂開始の遅れといった *meu13* 破壊株に類似の表現型を示した。また、組換え酵素 *Dmc1* との遺伝学的解析を試みた結果、*Mcp7* が *Dmc1* の下流で機能することを支持するデータを得た。これらの結果から、我々は *Mcp7* が *Meu13* と共同し、減数分裂期組換えに重要な役割を果たすと結論した。

分裂酵母において、第一減数分裂前期の核の往復運動 (ホーステイル運動) は相同染色体の対合、組換えを効率良く起こすために必要である。*mcp6* 破壊株ではホーステイル運動が鈍くなり、相同染色対の対合効率と組換え頻度が減少した。さらに *Mcp6* がホーステイル期を通して発現し SPB に局在することを見出した。また、*mcp6* 破壊株では微小管の局在に異常が見られた。*Mcp6* はホーステイル期特異的な SPB 結合蛋白であり、正確な星状微小管形成を促進する事で核のホーステイル運動を成し遂げるのに貢献していると考えられる。

Mcp5 は PH ドメイン依存的にホーステイル期の cell cortex に複数のドットとして観察された。*mcp5* 破壊株でも *mcp6* 破壊株同様に核運動が阻害された。正確なホーステイル運動のためには SPB から派生した微小管が対極の cell cortex まで伸長し、微小管上のダイニン複合体が cell cortex に蓄積する事で微小管をスライドさせてる事が重要とされている。*mcp5* 破壊株ではダイニンの cell cortex での蓄積も微小管の cell cortex でのスライドもわずかしか観察さ

れなかった。これらの結果から、Mcp5は cell cortex におけるダイニンアンカーとしてホーステイル運動を促進している事が考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論分は生殖細胞を生み出すための特殊な細胞分裂である減数分裂過程で機能する3つの新規蛋白質 (Mcp7、Mcp6、Mcp5) の機能の一部を明らかにしたものである。第一分裂前期の相同染色体の対合過程での種特異性に焦点を当てて、哺乳類や植物、出芽酵母で保存されている相同組換えのメカニズム、また、分裂酵母をモデル生物として用いることで、そのユニークな特徴であるホーステイルと呼ばれる相同染色体対合に必要な核運動のメカニズムの一端を解明した。

まず、Mcp7は出芽酵母 Mnd1 とホモロジーがありその局在はホーステイル期の核にありクロマチンに結合した。免疫沈降で Mcp7 が Meu13 と *in vivo* で相互作用する事が確かめられた。mcp7破壊株では組換え頻度の低下、組換えチェックポイント依存的な第一分裂開始の遅れといった *meu13* 破壊株に類似の表現型が示された。また、Mcp7は組換え因子である Dmc1 の下流で機能することを支持するデータが示された。これらの結果から、Mcp7が Meu13 と共同し、減数分裂期組換えに重要な役割を果たすと結論された。

分裂酵母では第一減数分裂前期の核の往復運動 (ホーステイル運動) は相同染色体の対合、組換えを効率良く起こすために必要であるが、mcp6破壊株ではホーステイル運動が鈍くなり、相同染色対の対合効率と組換え頻度の減少がみられた。さらに Mcp6 がホーステイル期を通して発現し SPB に局在することが見出された。また、mcp6破壊株では微小管の局在に異常が見られた。これらの結果から、Mcp6 がホーステイル期特異的な SPB 結合蛋白であり、正確な星状微小管形成を促進する事で核のホーステイル運動を成し遂げるのに必要である事が示された。

Mcp5は PH ドメイン依存的にホーステイル期の cell cortex に複数のドットとして観察され、一部はダイニン重鎖と共局在した。mcp5破壊株でも mcp6破壊株同様に核運動が阻害された。正確なホーステイル運動のためには SPB から派生した微小管が対極の cell cortex まで伸長し、微小管上のダイニン複合体が cell cortex に蓄積する事で微小管をスライドさせてる事が重要とされているが、mcp5破壊株ではダイニンの cell cortex での蓄積も微小管の cell cortex でのスライドもわずかしき観察されなかった。これらの結果から、Mcp5 が cell cortex におけるダイニンアンカーとしてホーステイル運動を促進する事が示された。

これら三つの新規蛋白質の機能を調べた事で、第一減数分裂前期の種間で保存された相同組換えのメカニズムを分裂酵母で確かめると共に、分裂酵母に特異的なホーステイル核運動のメカニズムの一端の解明に大きく貢献した。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。