

Title	Gross chromosome rearrangements in fission yeast
Author(s)	中村, 健一
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/49309
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	なかむらけんいち 中村健一
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第22195号
学位授与年月日	平成20年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Gross chromosome rearrangements in fission yeast (分裂酵母を用いた染色体の安定維持機構の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 升方 久夫 (副査) 教授 花岡 文雄 教授 田中亀代次 教授 平岡 泰

論文内容の要旨

染色体の安定維持は生命の維持に重要である。しかし、染色体構造との関連など、その分子機構は明らかではない。そこで、本研究は高等生物に共通した染色体構造を持つ分裂酵母を用いて、染色体喪失、異常の頻度測定と異常染色体の構造解析から、染色体の安定維持の分子機構を明らかにする事を目的とした。一般的に染色体喪失や染色体異常が起きると細胞は致死となり解析できない。そこで、細胞の生育に必須でない三番染色体由来のミニ染色体を用いて染色体の安定性を調べる系を構築した。ミニ染色体の左腕に *LEU2*、右腕の中央付近に *ura4*、*ade6* 遺伝子を導入し、 Leu^- 、 Ura^- を染色体喪失、 Leu^+ 、 Ura^- 、 Ade^- を染色体異常として検出した。構築した系を用いて、野生株において通常の培養下で染色体喪失、異常が起きる頻度を調べた。その結果、それぞれ一細胞分裂あたり 3.4×10^{-5} 、 2.9×10^{-5} の頻度で起きる事が明らかになった。次に、検出された異常染色体の構造を知る為にサザン解析を行った。その結果、相同染色体(三番染色体とミニ染色体)間での「転座」と、染色体右腕が左腕と同じ配列を持つ「同腕染色体」の2つの異常染色体が見られた。興味深い事に「同腕染色体」ではセントロメアのリピート配列の再編が起きている事が明らかになった。そこで、DNA チェックポイントキナーゼ ATR の相同因子 Rad3 の染色体安定性への寄与について調べた。その結果、Rad3 の破壊株では、染色体喪失、異常が共に高頻度で起こる事が分かった。また、変異株の解析から Rad3 のキナーゼ活性が外的なストレスが無い状況においても染色体の安定維持に重要である事が明らかになった。以上の結果から、染色体分配に重要なヘテロクロマチン構造やキネトコア構造を形成するセントロメアで再編が起こる事、またその抑制に DNA チェックポイント Rad3/ATR キナーゼが重要である事が分かった。

論文審査の結果の要旨

染色体の安定維持は生命の維持に重要である。通常の生育下でも染色体には欠失などの異常や異数性が生じる事があり、細胞のがん化に関連している。しかし、これらに至る分子機構は明らかでない。中村君は分裂酵母を用いて、染色体の安定維持の分子機構の解析を行った。具体的には、生育に必須でないミニ染色体を用いて染色体異常、染色体喪失を調べる実験系を構築した。そして、染色体異常、喪失の頻度測定と、検出した異常染色体の構造解析を行っ

た。まず、通常の培養下で染色体異常、喪失の頻度を調べると、共に一細胞分裂あたり約 3.0×10^{-5} で、ミニ染色体は安定に維持される事、自然発生的な染色体異常が低いながらも一定の頻度で起きうる事が明らかになった。

次に、サザン解析により異常染色体の構造解析を行った結果、「転座」と、セントロメアを挟んで両腕に同じ配列を持つ「同腕染色体」を検出した。同腕染色体ではセントロメアから再編が起きている事が明らかになった。そこで、DNA チェックポイントキナーゼ Rad3/ATR の寄与について調べると、破壊株では転座とともに同腕染色体の形成が異常が高頻度で起こる事が分かった。この事から、同腕染色体形成の引き金となる DNA 複製停止や DNA ダメージが、セントロメアで生じている事が考えられる。これらの知見は非常に新規性の高いものである事から、学位に値するものと認める。