

Title	分裂酵母・減数分裂特異的タンパク質Mug28は胞子壁の形成を制御する
Author(s)	重久, 晃
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49339
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	しげ 久 晃
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 23093 号
学位授与年月日	平成21年3月24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	分裂酵母・減数分裂特異的タンパク質 Mug28 は胞子壁の形成を制御する
論文審査委員	(主査) 教授 野島 博 (副査) 教授 平岡 泰 教授 米田 悦啓 招聘教授 花岡 文雄

論文内容の要旨

減数分裂は1回の減数分裂前のDNA合成と連続した2回の細胞分裂が行われる特殊な細胞周期である。また、性で繁殖する生物種においては次世代へ遺伝情報を伝達させる為に必須なものであり、一倍体の配偶子形成において重要なプロセスでもある。減数分裂研究の良いモデル生物である分裂酵母では、索素源枯渇条件下で異なる接合型の一倍体同士が接合することにより開始され、核融合を経て減数分裂前のDNA合成が行われる。その後核はhorse-tail型になり、それが細胞内を前後に往来している間に染色体の相同的対合や組換えが行われる。そして連続した核分裂後にそれぞれの一倍体の核の周囲に膜小胞が融合して前胞子膜形成が行われ、leading edge proteinが前胞子膜伸長を誘導し、胞子形成が進み、4つの成熟した子嚢胞子が形成される。

我々は多段差引法(段階的サブトラクション法)を用いて、分裂酵母の減数分裂で特異的に転写される多数のnon-coding RNAを単離してきた。申請者は、これらと協調して機能する可能性のあるRNA結合タンパク質の機能解析を進め、まずは減数分裂で特異的に発現し、RNA認識モチーフを持つSpo5タンパク質が、減数分裂の進行に必須であり、prophase Iの核内においてMei2-dot様のdot構造を示すことを報告した。本学位申請論文においては、RNA認識モチーフを持ち、減数分裂で特異的に発現する、Mug28タンパク質の機能解析について報告する。

Mug28はRNA認識モチーフ(RRM)を3つ持つためRNA結合タンパク質と予想される。Northern blot、Western blot、RT-PCR解析を行ったところ、Mug28の発現がmeiosis Iから胞子形成に至るまで認められた。GFPを融合させたMug28-GFPの局在を生細胞観察することで、metaphase Iからanaphase IIにおいて主に細胞質に局在していることがわかった。Mug28の機能解析のために、*mug28⁺*破壊株(*mug28Δ*)を樹立して減数分裂へ誘導したところ、異常な前胞子膜形成により胞子生存率が大きく低下していた。前胞子膜マーカータンパク質であるPsy1にGFPを融合させ、ライブでの前胞子膜形成を観察すると、*mug28Δ*では4つの前胞子膜形成後に出芽するような形で過剰な前胞子膜を形成することを見出した。この過剰な前胞子膜を生み出す異常な前胞子膜形成は、前胞子膜の伸長を誘導するleading edge proteinの一つであるMeu14の分解異常による残存に起因していると考えられた。実際、Meu14-GFPを発現する細胞株を樹立して、タイムラプス観察を行ったところ、野性株においては、前胞子膜の伸長を誘導し、各々の核を完全に取り囲むとMeu14の消失が見られたが、*mug28Δ*においては、各々の核が取り込まれた後でも、Meu14は残存し、そこから余剰な前胞子膜があたかも出芽するような形で新たに形成されていくことを発見した。胞子の形状を電子顕微鏡で観察したところ、*mug28Δ*では「雪ダルマ型」の異常な前胞子膜が母細胞の膜と連続した形で膜伸長を起こしており、その胞子壁は野生株よりも1.5倍もの厚みを持っていた。Mug28は3つのRNA認識モチーフを持つが、どのRRMが機能性を持っているかを調べるため、様々なMug28 RRM欠失変異株を作成し、それらの細胞内での局在、胞子

生存率、前胞子膜形成などについて調べた。その結果、RRM3が最も重要であり、次いでRRM1が補助的な機能を担っていることを見出した。

以上の結果を総合して、減数分裂特異的に発現しRNA認識モチーフを持つMug28が前胞子膜と胞子壁の形成・成熟に重要な役割を持つと結論した。

論文審査の結果の要旨

減数分裂は、生殖細胞を形成するための必須な過程であるが、その制御機構には不明な点が多く残されている。申請者は、有用な実験モデルである分裂酵母において、減数分裂特異的に転写されるnon-coding RNAの相互作用因子と考えられるRNA結合タンパク質群に着目した。中でもRNA認識モチーフ(RRM)を持ち、減数分裂特異的に発現する機能未知なMug28について機能解析を行った。分子遺伝学的手法と電子顕微鏡・蛍光顕微鏡による形態観察を組み合わせることで解析した結果、Mug28は前胞子膜の伸長・形成を促進・誘導するMeu14の適切な分解を制御することで、胞子形成に関与していることを明らかにした。またMug28の3つのRRMのうち3番目のRRMがこの機能に強く関与することを示した。本研究で得られた成果は、減数分裂における配偶子形成の制御の理解にとって重要な知見をもたらし、分子細胞生物学の進歩に貢献した。よって申請者は学位の授与に値するものとする。