

論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 政充

分裂酵母の Mei2 タンパク質(Mei2p)は減数分裂が進行するために必須の機能をもつ RNA 結合タンパク質である。体細胞分裂時には、Mei2p は Pat1 キナーゼによるリン酸化を受けてその機能が抑えられているが、減数分裂誘導条件下では Pat1 キナーゼは不活性化され、脱リン酸化型の Mei2p が蓄積して減数分裂が開始する。Mei2p は減数分裂前 DNA 合成および減数第一分裂という減数分裂の異なる 2 つの段階において減数分裂の進行に必須の活性を担っている。

体細胞分裂周期にある細胞では Mei2p は細胞質に局在する。減数分裂前 DNA 合成開始時も同様に細胞質局在を示すが、その後、減数第一分裂の進行に必須の機能を果たすために、Mei2p は meiRNA と呼ばれる RNA と結合して、核内でドット状に局在する。meiRNA 欠損株は減数第一分裂の前で停止し、Mei2p の核内ドットを形成しない。このように meiRNA は Mei2p を核内に局在させる機能を持つことが示唆されていたが、その具体的な作用機構は不明であった。佐藤政充は学位論文の第一章でこの問題を解決すべく、Mei2p の核-細胞質間輸送について解析を行った。

核外移行阻害剤を用いた解析の結果、体細胞分裂条件下においても Mei2p は meiRNA 非依存的に核内に流入し、また exportin 1 に依存した経路で細胞質に排出される、核-細胞質間をシャトルするタンパク質であることが明らかとなった。さらに核外移行阻害条件下で Mei2p の核内蓄積速度を検討した結果、Mei2p の核内への輸送には meiRNA は関与していないことが示され、meiRNA は Mei2p の核内への輸送の促進ではなく、核内に輸送された後の Mei2p を核内に繫留してドット状に局在させるのに必要な因子であることが結論された。

第二章において学位申請者は、Mei2p が減数分裂を制御する分子機構をさらに解析するために、two-hybrid 法を用いて Mei2p と相互作用する因子を検索した。得られた因子の中から分裂酵母の 14-3-3 タンパク質である Rad24p に注目して詳しい解析を進めた。14-3-3 は酵母から高等真核生物に至るまで高度に保存されており、様々なタンパク質と相互作用して多岐にわたる細胞内現象に重要な役割を担うことが知られている。14-3-3 はリン酸化された特定のモチーフに結合することが明らかとなっている。学位申請者は Mei2p の Pat1 キナーゼによるリン酸化部位がこの 14-3-3 結合モチーフに相同性を有することに着目し、Rad24p が脱リン酸化型の Mei2p よりも Pat1 キナーゼによってリン酸化された Mei2p とより強く結合することを明らかにした。

一方、遺伝学的な解析から、Rad24p は減数分裂を抑制する活性を持つことを見出し、

Rad24p が meiRNA とは反対に Mei2p の核内ドット形成を阻害していることを示唆する結果を得た。その分子機構を追究した結果、Rad24p は Mei2p の核移行ではなく、核内に移行した後のドット形成段階を阻害していることが示された。さらに具体的に、Rad24p は Pat1 キナーゼによってリン酸化された Mei2p に強く結合することによって、リン酸化型 Mei2p が meiRNA と結合するのを阻害することが示された。

以上をまとめて、学位申請者は減数分裂の開始制御機構として以下のモデルを提唱した。体細胞分裂時にわずかに発現される Mei2p は、核-細胞質間をシャトルしているが、Pat1 キナーゼによるリン酸化を受けているため 14-3-3 が結合している。その結果 Mei2p は meiRNA と効率よく結合できずにドット形成に至らず、exportin 1 によって核外に排出される。これに対して減数分裂条件下では、Pat1 キナーゼが不活性化され、Mei2p の発現も増加する結果、脱リン酸化型の Mei2p が蓄積し、これらは 14-3-3 とごく弱い結合しかしない。従って、減数分裂条件下でやはり発現が増大した meiRNA は 14-3-3 により阻止されることなく Mei2p と結合し、ドット状の Mei2p-meiRNA 複合体を形成して減数分裂を進行させる。このように、Pat1 キナーゼによる Mei2p の不活性化機構は、少なくとも部分的には 14-3-3 による Mei2p のドット状局在阻害の結果であることが明らかとなった。また、14-3-3 が RNA 結合タンパク質のリン酸化されたセリン/スレオニンに結合することにより、RNA 結合モチーフを被い隠して RNA との結合を阻害するという、興味深い機構の存在が示唆された。

以上、佐藤政充は分裂酵母の減数分裂開始制御因子 Mei2p の核内ドット形成機構を解析し、Mei2p が核-細胞質間をシャトルするタンパク質であること、meiRNA が Mei2p を核内に繫留してドット状に局在させる因子であること、この meiRNA の機能に対し 14-3-3 タンパク質が拮抗して作用すること、14-3-3 タンパク質はリン酸化された Mei2p に選択的に作用し、それによってリン酸化が減数分裂を阻害する理由がうまく説明されることを示した。この成果は、減数分裂の分子機構の理解に対して重要な寄与をなすものであり、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は篠崎（矢花）聡子、山下朗、渡辺嘉典、山本正幸との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、佐藤政充に博士（理学）の学位を授与できると認める。