

論文審査の結果の要旨

氏名 戸谷 美夏

学位申請者戸谷美夏は、分裂酵母の細胞形態に関わる二種の新規遺伝子を解析し、得られた結果を二章に分けた学位申請論文一篇にまとめている。細胞の形態はその機能と強く相関し、分化の過程で整合的に制御され、増殖期においては細胞周期依存的に制御されている。本研究は、細胞形態を研究するための優れたモデル系である分裂酵母を用いて、細胞形態維持に関わる分子機構の理解の深化を目指したものである。

結果の第一章で学位申請者は、細胞極性の制御に関わると考えられているCdc42p情報伝達系の新たな因子の同定を試みた結果、過剰発現により細胞を球形化し、倍数化させることによって胞子形成を導く*pob1*遺伝子を単離した。Pob1pは、出芽酵母で出芽時の細胞極性維持に関与するBOIと高い相同性を示すタンパク質であった。*pob1*遺伝子破壊の結果、*pob1*は生育に必須な遺伝子であった。学位申請者はさらに温度感受性株(*pob1-664*株)を単離して*pob1*の機能解析を進めた。*pob1-664*株が出芽酵母BOI2で相補されたことから、Pob1pは機能的にもBOIタンパク質と相同であることが示唆された。*pob1-664*株を制限温度に移すと、分裂を停止し、大部分の細胞が1核で隔壁をもたない状態になった。FACS解析から、これらの細胞はG2期で増殖を停止していたが、G2期停止の典型的な表現型である細胞の伸長は認められず、細胞伸長の停止が*pob1*変異の1つの表現型として示唆された。*pob1-664*株では制限温度下でただちに細胞の伸長が停止してM期に進入できないという可能性が考えられたため、*pob1-664*株をヒドロキシウレア(HU)存在下で細胞長を十分に伸長させてから制限温度にシフトアップした。この場合、HUを除去すると、制限温度でも核分裂が進行し隔壁が形成されたが、隔壁形成後の細胞の分離できないという新たな欠損が表れた。これらの結果から、Pob1pは、核分裂や細胞質分裂自体には必要ではないが、細胞の伸長と細胞質分裂後の細胞の分離に必要であると結論した。電子顕微鏡観察では、*pob1-664*株が制限温度下で形成した細胞隔壁は、一次壁、二次壁ともに肥厚した異常なものであった。Pob1pは、細胞周期の進行に伴って伸長端から隔壁形成部位へと局在を変化させ、F-アクチンとよく似

た局在を示した。しかし、それらの局在は細部で異なり、F-アクチンは間期には成長端付近にパッチ状に、細胞質分裂時に細胞の中央に収縮するリングとして存在するのに対し、Pob1pは、細胞伸長端や隔壁形成部位に面状に観察された。これらの結果から、Pob1pは、新生された細胞膜に局在し、F-アクチンパッチとともに分泌の後期過程に関わることによって、細胞壁の構築に関与していることが示唆された。

結果の第二章には、分裂酵母のI型ミオシンをコードする*myo1*を単離し解析を行なった結果が述べられている。I型ミオシンは、酵母から哺乳類まで広く保存され、細胞の運動性、細胞形態の変化、エンドサイトーシスなど、細胞の示す重要な現象に関わるタンパク質である。分裂酵母Myo1pは、アメーバタイプのtype I ミオシンと高い相同性を示し、頭部と尾部の境にIQモチーフ、尾部にSH3ドメインをもっていた。遺伝子破壊の結果、*myo1*遺伝子は増殖に必須ではなかったが、破壊株では細胞端へのF-アクチンパッチ分配やF-アクチンリングの形成、細胞形態などに異常の見られる細胞が観察された。*myo1*遺伝子破壊株の増殖は、低温・高温、および高塩濃度感受性となり、制限温度下では、娘細胞の不分離や細胞壁物質の異常な蓄積を示す細胞が観察された。Myo1pの機能にはMyo1pの頭部ではなく尾部が重要であった。*myo1*遺伝子破壊株を孢子形成条件下におくと、減数分裂は進行するが孢子形成不能の表現型を示した。*myo1*破壊株の接合・孢子形成過程におけるF-アクチンの局在観察の結果から、Myo1pの機能が欠損するとF-アクチンの再構成の過程に遅れを生じ、F-アクチンの細胞周期に応じた局在変化が、細胞周期進行に伴うその他の細胞内の変化に追いつけないことが推測された。Myo1pの細胞内局在を観察したところ、増殖時、接合・孢子形成時ともにMyo1pはF-アクチンパッチと共局在した。以上の結果は、Myo1pがF-アクチンの重合を促進して細胞内でF-アクチンの再構成に機能していることを強く支持した。

以上、学位申請者戸谷美夏は、細胞形態の維持に関わる2種の重要な遺伝子とその分子機能が推定できるレベルにまで解析し、この分野に新しい知見をもたらした。この成果は、博士（理学）の称号を受けるにふさわしい業績であると審査員全員が判定した。なお本論文は第一章が飯野雄一、山本正幸と、第二章が茂木文夫、中野賢太郎、馬淵一誠、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、戸谷美夏に博士（理学）の学位を授与できると認める。