

論文審査の結果の要旨

氏名 吉田知史

本論文は、出芽酵母を実験材料として、細胞周期 M 期終了の分子機構を解明しようとしたものである。申請者は細胞周期制御因子の局在変化を種々の突然変異体の中で観察するという方法により、M 期終了の時間的、および、空間的な制御を明らかにしようとした。第一章では、Ras 蛋白質が M 期終了の開始を制御する最も上流の因子 Lte1 の局在を制御することをしめした。第二章では、M 期終了の最終段階である Cdc14 ホスファターゼの局在制御について解析した。第三章では、Cdc14 ホスファターゼの局在制御が Cdc5 ポロキナーゼによる核小体蛋白質 Net1 のリン酸化によることをしめした。以下、それぞれの章に関する要旨を示す。

第一章 Ras による M 期終了の制御

酵母の Ras の主要な機能は cAMP 合成の活性化であるが、Ras の機能を失うと M 期進行にも異常を示すことが知られていたが、その分子機構は不明であった。活性化型の Ras2 や ira1 欠損（いずれも Ras の活性を高進させる）による熱ショック感受性を多コピーで抑圧する遺伝子として、LTE1 を分離していたが、この LTE1 の破壊株は低温において M 期終期停止の表現型を示した。Lte1 は Ras の活性化因子である GEF のモチーフを持つ蛋白質である。LTE1 破壊株の低温感受性を多コピーで抑圧する遺伝子として TEM1 が分離され、Tem1 は低分子量 GTPase をコードし M 期終了のキー因子であることが明らかにされた。上に述べた経緯から、Lte1 は Tem1 の活性化因子として働くという仮説が提唱されている。本章で、この仮説が誤りであることを示している。その根拠は、Lte1 は活性化型 Ras(Ras-GTP)と結合するが、Tem1 とは結合しないこと、および、Lte1 の GEF は Ras との結合に必要であるが、これがなくても多コピーにすると LTE1 破壊株の M 期欠損を抑圧すること、である。また、Ras は Lte1 を娘細胞の表層に局在させることに働くことを示した。これらの結果は Lte1 が Ras のエフェクターであることを示している。

第二章 M 期における Cdc14 ホスファターゼの局在変化

Cdc14 は M 期 Cdk によりリン酸化された基質を脱リン酸化することにより

M期終了を司るホスファターゼで、M期 Cdk の不活性化に必須である。Cdc14 はその阻害因子 Net1 により核小体に封じ込められているが、M 期後期に細胞全体に放出されて Cdk を不活性化する。Cdc14-GFP は核分裂の開始とほぼ同時に核小体から放出され、M 期が終了し細胞質分裂が始まると同時に核小体に戻った。ノコダゾール存在下では細胞は M 期中期で停止し、Cdc14-GFP は核小体に保持されたままであった。ところがスピンドルチェックポイント因子である Mad2 あるいは Bub2 を欠損した株では一部の細胞で Cdc14 の放出がおこり、多少の遅延はあるもののやがて次の細胞周期へと進行した。この結果は Cdc14 の核小体からの放出がスピンドルチェックポイントにより阻害されていることを意味する。Cdc14 の核小体からの放出はスピンドルチェックポイントで制御されていることを示した。

第三章 Cdc5 ポロキナーゼによる Cdc14 局在制御

申請者は M 期終了に必須で M 期に活性化する Cdc5 kinase の変異株では Cdc14 の放出がまったくおこらないことを発見した。Cdc14 の放出は Mad2 や Bub2 を欠損した株でも Cdc5 がなければおこらないことから Cdc5 はこれらスピンドルチェックポイントよりも下流で Cdc14 を制御していると考えられた。そこで、Cdc5 によるリン酸化が核小体の Net1-Cdc14 複合体を分離させるのではないかという考えのもとで、これらの因子が Cdc5 の基質である可能性を調べた。その結果、Net1 が Cdc5 にリン酸化されることにより、Cdc14 は核小体から放出されることがわかった。

以上のように、申請者は出芽酵母の M 期終了にかかわる因子の働きを時間的ならびに空間的な制御の観点から検討し、これまで信じられていたモデルを訂正し、あらたなモデルを提唱している。この間に構築した菌株、プラスミドは国内外の研究者に役立っている。本論文は博士（理学）に値することが、審査委員全員一致で認められた。