

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大西 雅之

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* は通常一倍体で増殖を行うが、窒素源の枯渇などに応答して接合・胞子形成を行い、悪環境に対応する。胞子形成は接合後の二倍体核が二回の減数分裂によって4個の一倍体核へと分配され、それぞれを前胞子膜 (forespore membrane, FSM)が取り囲んで胞子膜を形成、その後細胞壁が合成されることで完了する。胞子形成は配偶子形成の重要な一過程であり、また細胞の分化や新規オルガネラ形成のモデルと考えることが出来る。本論文は其中でも FSM の伸長過程に注目し、新規の生体膜形成メカニズムを解明するための題材として使用している。FSM は減数第二分裂中期に小胞の融合によって構築され、減数分裂の進行に伴って FSM は核を取り囲むようにして伸長してゆき、球体状の胞子膜になる。正しく胞子を形成するためには FSM の伸長は厳密に制御されているはずであり、特に柔軟な膜構造が定まった形態と大きさの胞子膜を作るメカニズムは大きな謎であるが、これまでに詳細は知られていなかった。

FSM が正しい形態をとるためには何らかの骨格タンパク質の関与が考えられる。本論文は三章からなり、近年新たな骨格タンパク質として注目されているセプチンに着目し、このタンパク質が前胞子膜の伸長に関わる因子であると仮説を立て、それを証明している。

第一章ではこれまでに全く解析されていなかった分裂酵母のセプチン遺伝子の機能を破壊株の表現型および各タンパク質の局在から分類している。その結果、セプチンをコードしていると思われる7つの遺伝子(*spn1⁺-spn7⁺*)のうち、胞子形成に関わる4つのセプチン遺伝子 *spn2⁺*, *spn5⁺*, *spn6⁺*, *spn7⁺*を同定している。これらの遺伝子の破壊株では胞子形成が正常に進行せず、その数が少なくなるという表現型が現れたことから、セプチンが胞子形成において重要な役割を果たしていることが示唆された。

第二章ではセプチン破壊株の表現型を詳細に解析している。蛍光顕微鏡によるタイムラプス観察、電子顕微鏡観察の結果から、セプチン破壊株では前胞子膜の伸長初期段階において伸長方向が正しく規定されておらず、核を取り囲むことに失敗していることを明らかにしている。また、セプチンが前胞子膜を裏打ちする馬蹄形構造を形成しており、これが膜とともに伸長してゆき最終的に胞子膜の赤道面にリング状の構造を形成することを明らかにしている。さらに、セプチンと膜との相互作用を可能にする因子としてイノシトールリン脂質に着目し、セプチンが *in vitro* で PtdIns(4)P と結合すること、PtdIns(4)P が胞子膜上に存在すること、セプチンのイノシトールリン脂質結合領域に変異を導入すると前胞子膜の伸長が異常になることを明らかにしている。これらの結果から、セプチンが膜上の PtdIns(4)P を介して前胞子膜と結合して伸長してゆくことで胞子膜の形態を正しく形成するのを助けているというモデルを提唱している。

第三章では更なる解析のための試みとして、セプチン結合タンパク質の探索とその機能解析を行っている。Yeast Two-hybrid screen によって Spn2p 結合タンパク質として Moe1p を同定、その結合を複数の手法で確認している。しかし、Moe1p は胞子形成時においてセプチン

ンと共局在せず、また破壊株の表現型も一致していない。一方、栄養増殖期の細胞においてセプチンと Moe1p の遺伝学的な関係を調べた結果、これらの因子が細胞の増殖極性構築において共に働く因子であることが示唆された。セプチンが極性構築に関与することはこれまでに知られておらず、新しい機能を発見したが、当初の目的とは異なる結果となった。これらの結果から申請者は、第三章での試みにおける問題点を考察し、今後の研究のための情報を提供している。

以上、本論文は分裂酵母の胞子形成を題材として膜構造の形成機構を研究しており、セプチン遺伝子はその課程で重要な役割を果たしているというモデルを提唱している。これまで詳細が知られていなかった胞子膜の形成機構に有用な知見を供給したもので、学術上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。