

# 論文審査の結果の要旨

氏名 張ヶ谷 有里子

有性生殖サイクルにおいて、減数分裂は世代から世代へと遺伝情報を伝達する生殖細胞を形成するために必須の機構である。減数分裂では、遺伝情報を半減させるために特殊化した、一回の S 期とそれに続く二回の M 期から構成される細胞周期、およびそれらと協調した配偶子特異的な形態形成などの事象が種を越えて広く保存されている。減数分裂特有の事象の遂行のためには、減数分裂遺伝子の緻密に制御された発現が必要であり、逆に体細胞では、減数分裂特有の反応が引き起こされないように減数分裂遺伝子の発現が抑制されることが重要である。学位申請者張ヶ谷有里子は、細胞周期制御の代表的なモデル生物である分裂酵母 *S. pombe* を用いて減数分裂制御の問題に取り組んだ。学位論文では、Introduction および Materials and Methods に続き、「結果と考察」にあたる 2 章において研究成果とその意義が述べられ、Conclusion が付されている。

分裂酵母において、主要な転写因子をコードする *mei4* や染色体接着分子をコードする *rec8*をはじめ、*ssm4* や *spo5* などの減数分裂特異的因子の mRNA は体細胞分裂期に発現させると極めて不安定であり、このような不安定性はコード領域または 3'UTR に存在する DSR とよばれる領域に依存していることが先行する研究で明らかになっていた。申請者は本研究において、減数分裂特異的 mRNA の DSR 依存的な不安定化に必要なトランス因子 *mmi1* (meiotic mRNA instability)の単離同定に成功し、その機能解析を行った。*mmi1* 遺伝子は YTH ファミリーのタンパク質をコードし、精製した組み換え Mmi1 タンパク質は、DSR の RNA 配列に対して *in vitro* で特異的に結合することがわかった。*mmi1* を破壊すると、細胞は減数分裂特異的遺伝子の異所的発現が原因と考えられる著しい生育阻害を示した。PCR を用いたランダム変異導入により *mmi1* の温度感受性変異株を作製したところ、制限温度下において、*mei4* および *ssm4*, *spo5*, *rec8* 遺伝子の異所的発現が見られた。一方、*mmi1 mei4* 二重破壊株を作製したところ、生育が部分的に回復したことから、Mmi1p による減数分裂特異的遺伝子の発現抑制が細胞の栄養増殖にとって重要であることが示唆された。

Mmi1p を過剰発現すると、細胞の栄養増殖や栄養源枯渇にともなう増殖停止には著しい影響が見られないが、減数分裂前 DNA 合成の開始が阻害され、減数分裂初期の進行に Mmi1p 機能の適切な制御が重要であると考えられた。Mmi1p に対する抗体を用いた発現解析では、Mmi1p は減数分裂中期までほとんど量的に変動かった。いっぽう、Mmi1p と GFP の融合タンパク質を発現する株を作製して顕微鏡観察をおこなったところ、栄養増殖期の細胞においては複数個の核内ドットが観察されたのに対し、細胞が減数分裂に進入すると Mmi1p は核内の一点の強いシグナルに収束することが観察され、このような劇的な局在パターンの変化が Mmi1p の制御に関連していることが予想された。分裂酵母の減数分裂期の核内構造体として、減数分裂制御因子 Mei2p の形成する Mei2p ドットが知られている。CFP 融合 Mmi1p および GFP 融合 Mei2p を発現する株を作製して顕微鏡観察をおこなったところ、Mmi1p が収束する核内の一点と Mei2p ドットとが一致することがわかった。Mei2p ドットは、Mei2p と直接結合する meiRNA とよばれる noncoding RNA が転写される *sme2* 遺伝子座に形成され、*sme2* 遺伝子欠損株は Mei2p ドット形成不全となり、細胞周期は減数第一分裂の前で停止する。*sme2* 欠損株においては Mmi1p の一点への収束が損なわれることがわかり、Mei2p ドットが Mmi1p を係留する可能性が示唆された。また、組み換えタンパク質を用いて、Mei2p と Mmi1p との直接の結合が証明された。以上から、Mei2p は Mmi1p をドットに隔離して減数分裂遺伝子の発現を保証しているというモデルが立てられた。これを検証するため、*sme2* 破壊株に *mmi1* の機能低下型変異を導入したところ減数分裂の進行が回復し、Mei2p ドット形成不全による減数分裂周期停止は Mmi1p の機能を低下させることにより抑圧されるという、モデルと整合性のある結果が得られた。

以上、張ヶ谷有里子が明らかにした研究成果は、mRNA の安定発現を介した減数分裂制御機構の存在を証明する重要な業績であり、学位申請者は博士（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。なお本論文は田中祐嗣、田仲加代子、渡邊嘉典、堤千尋、近重裕次、平岡泰、山下朗、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、張ヶ谷有里子に博士（理学）の学位を授与できると認める。