

論文審査結果の要旨

氏名 塚原達也

本論文は要旨(和文および英文)、序、材料と方法、結果と考察(1~12章)、まとめと展望、参考文献および謝辞から構成される。

「序」では、細胞が分裂する際に姉妹染色分体を娘細胞へと均等に分配する上で重要な制御である染色体の二方向性結合の確立およびスピンドルチェックポイント機構について、これらの制御に重要な機能を持つ Chromosome Passenger Complex (CPC) の役割を中心に述べられている。また、本論文で染色体の二方向性結合を制御することが明らかになったサイクリン依存性キナーゼ (CDK) についてこれまでの知見が述べられている。さらに、本研究の目的が、CPC がその機能を果たすために必須である分裂期におけるセントロメア局在の制御機構の解明であることを記述している。

「材料と方法」では、本研究に使用した大腸菌および分裂酵母の遺伝子型と培地、および実験手法について詳細に記されている。

「結果と考察」は12章から構成される。第1章では、CPC の Bir1 サブユニットが、CPC のセントロメア局在に必要なシュゴシン Sgo2 と相互作用することを述べている。しかしながら、シュゴシンと CPC は分裂期においてのみ共局在することから、両者の関係には分裂期特異的な制御が存在すると考えられる。第2章では、Bir1 が分裂期に CDK によりリン酸化されることを示している。非リン酸化型変異株 (*bir1-8A*) は、分裂後期において高頻度で lagging chromosome (二方向性結合の確立に失敗した染色体) を生じており (第3章)、スピンドルチェックポイントの活性化にも欠損が観察された (第4章)。さらに、*bir1-8A* 変異株では Bir1 と Sgo2 との相互作用が消失しており (第7章)、CPC のセントロメア局在も著しく低下していた (第5章)。これらの表現型はリン酸化模倣型変異株 (*bir1-8D*) ではほとんど見られなかったため、CDK による Bir1 のリン酸化は CPC のセントロメア局在に必要なことが示唆された。一方で非リン酸化型 Bir1 はセントロメアに強制的に局在すると正常に機能したことから、Bir1 のリン酸化はセントロメア局在に特異的に必要であることが示された (第6章)。さらに、第8章では分裂期 CDK の制御サブユニットである Cdc13 の染色体の二方向性結合に特異的な欠損を示すような変異を同定し (*cdc13-M7*)、*cdc13-M7* 変異株では Bir1 のリン酸化レベルが低下していることを示している。第9章では、Bir1 の相互作用因子として同定した微小管結合タンパク質 Alp14 の解析が記さ

れている。第10章から第12章では、ヒト培養細胞においてもシュゴシンがCPCのセントロメア局在に必要であること(第10章)、ヒトCPCのBorealinサブユニットがCDKによるリン酸化依存的にシュゴシンに結合すること(第11章)、Borealinに対するリン酸化がCPCのセントロメア局在に必要であること(第12章)、が述べられている。

「まとめと展望」では、シュゴシンとCPCの関係の進化的保存性や、CPCのリン酸化におけるシュゴシンとの相互作用の安定化以外の意義、分裂後期におけるCPCのセントラルスピンドルへの移行の制御機構におけるCPCの脱リン酸化の意義について論じられている。

本論文で示されたCDKによるリン酸化に依存したCPCとシュゴシンとの相互作用は、CPCのセントロメア局在における進化的に保存された中心的制御であると考えられる。この成果は、正確な染色体分配に必須であるにも関わらずこれまで謎に包まれていたCPCのセントロメア局在の制御メカニズムを分子レベルで示したもので、大変重要な成果と考えられる。また、細胞周期進行の制御因子として知られるCDKがCPCのリン酸化を介して染色体の二方向性結合の過程を直接制御していることを初めて示したという意味において意義深い。

本論文に示されたデータは第10章の一部を除きすべて論文提出者が主体となって行ったものである。したがって、審査委員会は全員一致で塚原達也に博士(理学)の学位を授与できると認める。