

論文審査の結果の要旨

氏名 藤田 生水

分裂酵母細胞では、減数分裂前期の核が細胞の両極を周期的に往復移動する。この現象はホーステール運動と呼ばれ、紡錘極体（SPB）に束ねられた微小管と微小管モーターである細胞質ダイニン（以下ダイニンと表記）によって引き起こされる。学位申請者藤田生水は、ダイニンの制御因子として知られるダイナクチンと、ダイニンの細胞表層への繫留に必須の役割をもつ細胞表層の因子 Num1 タンパク質に注目し、細胞表層にダイニンを繫留して微小管の牽引を引き起こす分子機構の詳細を解析した。申請者はさらに、核の周期的な往復運動を発生する機構の理解を目指して、生細胞の微小管動態に基づく計算機シミュレーションモデルを構築し、解析を行った。

分裂酵母ではダイナクチンサブユニットの一つの Ssm4 がホーステール運動に必須であると知られていた。申請者はそれに加え、哺乳類等のダイナクチンサブユニット ARP1、p22/p24、p50/dynamitin とそれぞれ相同性をもつ、分裂酵母 Arp1、Mug5、Jnm1 の遺伝子を本研究で同定した。つぎにこれらの遺伝子破壊株を作製し、その表現型を観察して、いずれも減数分裂および胞子形成に異常をもつことを明らかにした。*arp1* 破壊株では、細胞の両端を行き来する SPB の往復運動が著しく損なわれていた。分裂酵母野生型株ではダイニンは SPB と微小管に局在し、また微小管が細胞表層に接する点にも強く局在する。申請者は、収縮する微小管のプラス端にダイニンが蓄積する様子を新たに明らかにした。*ssm4* 破壊株ではダイニンは SPB には局在するが微小管への局在が著しく損なわれるのに対し、*arp1*、*mug5*、*jnm1* の各遺伝子破壊株においてダイニンは SPB と微小管に局在していた。しかしこれらでは、微小管のプラス端が細胞表層に固定されず離れてしまった。Mug5 との結合に必須の C 末端領域を欠失させた Ssm4 を発現する株を作製したところ、完全破壊株とは異なりダイニンは微小管に局在できたものの、細胞表層に繫留されなかった。これらのことから、ダイナクチンはダイニンを微小管に局在させる働きと細胞表層に繫留する働きをもつと考えられた。

Arp1 の局在を詳細に観察すると、細胞表層に一過的に現れ、微小管と細胞表層が接する点にダイニンと共局在した。しかし、常に SPB に局在するダイニンや Ssm4 とは異

なり、Arp1 は SPB にほとんど局在しなかった。Arp1 と Ssm4 の局在が SPB 近傍では異なることから、細胞表層と SPB 近傍とではダイナクチンサブユニット構成が同一でないと考えられ、サブユニットの会合と乖離が細胞内で制御されている可能性が示唆された。一方免疫沈降実験から、Num1 とダイニン中鎖 Dic1 が Arp1 および Ssm4 に依存せずに結合できることが分かった。また、*num1* 破壊株では野生型株や *arp1* 破壊株と比べてダイニンのドットが細胞表層に沿って動きやすかった。これらから、Num1 は細胞表層でダイニンの位置を固定する役割があると示唆された。生細胞蛍光観察で微小管の伸縮速度を調べたところ、*arp1* 破壊株では微小管の収縮が遅く、逆に *ssm4* 破壊株では速かった。以上の結果を総合して、申請者はダイナクチンと Num1 がそれぞれ異なる役割を果たしてダイニンを細胞表層に繫留するというモデルを提唱した。

申請者はまた、生細胞での微小管動態に基づき SPB と核の往復運動を再現する計算機シミュレーションモデルを構築した。微小管のタイムラプス観察などから、ダイニンが微小管を引く力に加えて微小管が細胞表層を押す力を考慮することで、押す力を考慮しないモデルに比べてより生細胞に近い往復運動を再現した。次にシミュレーションのパラメータ値を様々に変えてみて、細胞長が一定時間あたりの往復回数に影響を及ぼすと予測した。実際に様々な細胞長の生細胞を観察し、短い細胞ほど一定時間あたりの往復回数が多いことを見出して、細胞長と往復回数の負の相関関係を解明した。同様にして、核内で染色体が SPB から離れてしまう *bqt1* 遺伝子破壊株における SPB の移動速度の上昇を予測し、実際に一定時間あたりの往復回数が多いことを示した。

以上、藤田生水は本研究により、分裂酵母で見られる核の周期的な往復運動が、微小管の基本的な動的性質と、ダイナクチンにより局在が可能になったダイニンが細胞表層で微小管を引く力とによって引き起こされているというモデルを提唱した。さらに生細胞観察とシミュレーションの比較を通して、ホーステール運動の特性についての新たな知見を得た。これらの研究成果は、細胞内での小器官の運動メカニズムの理解に重要な寄与をなすものであり、学位申請者の業績は博士（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。なお本論文は山下朗、木村暁、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、藤田生水に博士（理学）の学位を授与できると認める。