

論文審査の結果の要旨

氏名 岡本 真也

SCF 複合体は Skp1, Cullin-1, Rbx1, F ボックスタンパク質によって構成されるユビキチンリガーゼであり、真核生物に広く存在する。SCF 複合体は標的タンパク質をユビキチン化しタンパク質分解へと誘導することで様々な生命現象を制御する。しかし、SCF 複合体が減数分裂にどのように関わっているのかについてはよく分かっていない。学位申請者岡本真也は、SCF 複合体の減数分裂における機能を明らかにするために、分裂酵母をモデル生物として SCF 変異体が減数分裂過程で示す表現型の解析を行った。

まず減数分裂過程に SCF 複合体が必要かどうかを調べた。SCF 複合体の構成因子である *skp1* の温度感受性変異体を半制限温度下で減数分裂過程に誘導すると、胞子の数に異常を示す孢子嚢が高頻度で観察され、SCF 複合体が正しく減数分裂を行うために必要であることが示唆された。次に、*skp1* 変異体が示した異常が減数分裂過程のどの時期に生じているのかを調べるためにタイムラプス観察を行った。その結果、*skp1* 変異体では減数第一分裂においてスピンドル微小管が大きく曲がり折れる細胞が観察された。さらに、染色体結合タンパク質ヒストンを標識し、染色体分配に異常があるかどうかを調べた。観察の結果、*skp1* 変異体では減数第一分裂でスピンドル微小管が折れ曲がる間も染色体の一部が繋がったままであることが分かった。繋がった部分が染色体のどの位置にあたるのかを調べるため、キネトコアとテロメアを標識したところ、キネトコアはスピンドル極へと分配されていたが、テロメアは一部がスピンドル極の間に留まっていた。すなわち、*skp1* 変異体では減数第一分裂において染色体腕部の一部が分離できず、その結果、スピンドル微小管が折れ曲がると考えられた。

続いて、染色体腕部の不分離に減数分裂組換えが関わっている可能性を調べるために、減数分裂組換え開始に必要な *rec12* 遺伝子を破壊した。その結果、*rec12Δ skp1* 二重変異体はスピンドル微小管が折れ曲がる表現型を示さず、当該表現型は減数分裂組換えを介して生じていると考えられた。さらに、*skp1* 変異体において減数第一分裂で減数分裂組換えが活性化していることの確認のために、レコンビナーゼ Rhp51/Rad51 の局在を観察した。野生型株では減数分裂前期には Rhp51 の点状局在が見られたが減

数第一分裂に入ると点状局在は見られなくなった。一方、*skp1* 変異体では点状局在が減数第一分裂まで持続していた。この結果から、*skp1* 変異体では減数分裂組換えの中間体が正しくプロセシングされていない可能性が示唆された。

SCF 複合体のうち Skp1, Cullin-1, Rbx1 は不変の構成因子であるが、F ボックスタンパク質は可変で、分裂酵母には 18 種類存在すると考えられている。F ボックスタンパク質は基質認識を行うサブユニットであり、SCF 複合体の基質特異性を決めている。本研究で明らかにした *skp1* 変異体の異常はいずれかの F ボックスタンパク質が十分に働けなくなっているために生じている可能性が高い。そこで学位申請者は、*skp1* 変異体と同様の表現型を示す F ボックスタンパク質の変異体を探索した。その結果、*fbh1* の破壊株が減数第一分裂においてスピンドル微小管が折れ曲がる表現型を示すことが分かった。Fbh1 は Skp1 との相互作用部位である F ボックスに加えてヘリカーゼドメインを持ち、相同組換えに関わることが知られている。*fbh1* 破壊株は染色体腕部の分離に異常を示し、減数分裂組換えが活性化していたことから、*skp1* 変異体と同様の表現型を示すことが確認された。Fbh1 のヘリカーゼ活性と F ボックスが減数分裂に必要なかどうかを調べるために、ヘリカーゼ変異体 (*fbh1-D485N*) と F ボックス変異体 (*fbh1-P15A L26A*) を作製し観察を行った。その結果、*fbh1-D485* 変異体と *fbh1-P15A L26A* 変異体はいずれも減数第一分裂においてスピンドル微小管が折れ曲がる表現型を示した。このことから、減数分裂組換えの中間体を正しくプロセシングするためには Fbh1 のヘリカーゼ活性と F ボックスの両方が必要であることが示唆された。

以上、岡本真也は本研究により、分裂酵母において SCF 複合体、特に F ボックスタンパク質 Fbh1 を構成因子としてもつものが、減数分裂の第一分裂の時期に減数分裂組換えの中間体を正しくプロセシングするために機能しており、その機能不全によってスピンドル微小管が折れ曲がるという特異な表現型が現れることを明らかにした。これらの研究成果は、減数分裂の進行時にタンパク質分解系が果たしている役割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。なお本論文は佐藤政充、登田隆、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、岡本真也に博士（理学）の学位を授与できると認める。