

論文審査の結果の要旨

氏名 太田 緑

学位申請者太田緑は、分裂酵母を用いて減数分裂期におけるスピンドル極体 (Spindle Pole Body、以下 SPB と記載；高等生物の中心体に相当する細胞小器官) の挙動を解析した。真核生物は体細胞分裂と生殖細胞を生み出すための減数分裂の 2 つの分裂様式を持ち、細胞の種類や生育環境によってこれらの分裂様式を使い分けている。体細胞分裂では 1 回の DNA 複製に対して 1 回の核分裂が起こり、2 つの娘細胞が形成される。一方、減数分裂では 1 回の DNA 複製に対して 2 回の連続した分裂が起こり、4 つの娘細胞が形成される。減数分裂の制御には体細胞分裂と共通した因子に加え、組み換えや連続した 2 回の分裂の制御に関わる減数分裂特異的な因子が関与している。

中心体は真核生物の主要な微小管重合中心として、細胞構造の維持や細胞小器官の配置に機能している。分裂期の細胞では複製した 2 つの中心体が双極紡錘体を形成し、染色体の正確な分配に重要な役割を果たしている。また、近年では細胞周期制御の反応の場としての中心体の役割も重要視されている。中心体は減数分裂期の細胞においても紡錘体形成中心として機能しているが、その必要性は生物種および細胞種 (精母細胞、卵母細胞) で異なっている。また、分裂酵母では中心体に相当する SPB が減数分裂期の染色体分配に加えて、相同染色体の対合や組み換えにも機能していることが示されている。このように減数分裂期の中心体は、体細胞分裂期と同様に微小管重合中心として機能することに加え、減数分裂期特異的な役割を果たすために特別な制御を受けることが推測される。しかしながら、減数分裂期の中心体制御機構については未だ不明な点が多い。申請者は、分裂酵母細胞が体細胞分裂過程から減数分裂過程に分化する際、SPB がどのような制御を受けているかの解明を目指した。

研究結果は 1 章と 2 章とに分けて記載されている。1 章では、減数分裂期への分化に伴う SPB 構成因子の挙動に注目して生細胞観察を行い、体細胞分裂から減数分裂への移行とともに、多くの SPB 構成因子の SPB への局在が極度に減少し、第 1 分裂開始前に再び SPB に局在することが示されている。このような現象は体細胞分裂期には見られず、減数分裂移行後から減数分裂前期において SPB の構成が大規模に再編成されることを指し示している。さらに、こ

の SPB 再編成には、接合フェロモンに応答する MAP キナーゼが必要であり、第 1 分裂開始前の SPB 再構築には、サイクリン依存性キナーゼ 1 (CDK1) および Polo キナーゼ (Plo1) が必要であった。

体細胞分裂期には活性化した Plo1 が SPB や核に局在することが知られている。これに対し、減数分裂前期において、Plo1 はキネトコアや核に局在し、SPB には局在しないことが報告されている。そこで申請者は、SPB 再編成と Plo1 局在の関わりを調べるため、Plo1 を強制的に減数分裂前期 SPB に局在させた。その結果、減数分裂前期に SPB から消失していた因子が早期に SPB へと蓄積し、第 1 分裂開始時に SPB 数の増幅が見られた。さらに、第 1 分裂開始前に Plo1 が SPB へ局在するために half-bridge 因子 Cdc31/centrin が必要であった。以上の結果から、Plo1 は第 1 分裂開始前に Cdc31 を介して SPB に局在し、正確な SPB 再構築に寄与していることが分かった。

2章では、CDK1 や Plo1 の SPB 再構築に関わる基質を特定するため、複数の SPB 構成因子を大腸菌で発現精製し *in vitro* リン酸化アッセイを行っている。その結果、SPB 構成因子 Sad1 が Plo1 によって、Pcp1 が CDK1 と Plo1 によってリン酸化されることが分かった。さらに、ペプチドアレイ解析を用い、Pcp1 が Plo1 によりリン酸化される部位として 10 カ所のセリン、スレオニンを同定した。これらのセリンおよびスレオニンを全てアラニンに置換した変異型 Pcp1.10A が Pcp1 の減数分裂における発現をシャットオフした株に見られる孢子形成の異常を抑圧するかを調べた。その結果、変異型 Pcp1.10A を発現した株では野生型 Pcp1 を発現した株に比べて、正常な 4 孢子を形成する細胞の割合が減少した。したがって、これらの 10 カ所の部位のうち少なくとも一部は Pcp1 の機能に不可欠であることが示唆された。

以上、太田緑は本研究により、減数分裂過程において SPB の再編成と再構築がおこるとい興味深い現象を明らかにし、そこに働く主要な制御因子を特定した。またこの現象が、SPB の過剰複製を抑える意義を持つと考えられることを示した。これらの研究成果は、減数分裂における SPB/中心体の新しい役割を示唆する重要なものであり、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、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、太田緑に博士 (理学) の学位を授与できると認める。