

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 KIM Juyoung

論 文 題 目 Identification and analysis of mechanisms that
bypass the essentiality of Polo, a mitotic regulator

(有糸分裂制御因子 Polo の必須性をバイパスする機構の同定と解析)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(理学)	五 島 剛 太
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士(理学)	西 山 朋 子
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	博士(理学)	花 房 洋

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

有糸分裂 (mitosis) は細胞の基盤的な事象のひとつであり、これにより複製された染色体は 2 つの娘細胞に正確に分配される。有糸分裂の過程は真核生物間で一般的によく保存されている一方で、有糸分裂に必須な遺伝子は、生物種、細胞種によって異なることが知られている。このことは、ある生物種で特定の遺伝子群によって制御されていた有糸分裂制御機構が、生物進化の過程で、代替経路に置き換わるか、バイパスされる可能性があることを意味する。近年、必須遺伝子を欠きながら細胞が増殖することを実験室で再現する試みが盛んで、その現象は BOE (bypass of essentiality : 必須性バイパス) と呼ばれている。BOE はこれまで細胞内の幅広い現象で認められているが、有糸分裂に必須な遺伝子の BOE 現象 (BOE-mitosis) については、実験室で再現されたことはほとんどない。そのため、BOE-mitosis がどのような条件下で起こり得るのか、理解が進んでいない。

本研究では、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* で最近開発された BOE スクリーニング法を応用して、新規の BOE-mitosis 現象の発見を目指した。具体的には、有糸分裂に必須な遺伝子の一倍体破壊株に対して突然変異誘発、その後に進化実験 (experimental evolution) を行い、生育する株を選抜した。その結果、酵母から動物まで広く保存されたタンパク質リン酸化酵素である「ポロ様キナーゼ (Polo-like kinase)」について、その遺伝子配列を完全に欠失しながら生存可能な株が複数単離された。ポロ様キナーゼは多くの細胞種で必須であることが知られた有糸分裂制御キナーゼであるため、破壊株で生育する条件が見つかったことは予想外であった。

生育しているポロ様キナーゼ破壊株の全ゲノム配列を決定し、その後に変異体交配実験で確認したところ、ポロ様キナーゼの BOE は 16 のサプレッサー変異を介して達成されることが明らかになった。細胞機能に基づいてサプレッサーを分類したところ、大きく 2 つの要因で BOE が起こることがわかった。まず、ポロ様キナーゼが関与するシグナル伝達経路の下流にある γ -チューブリン複合体 (微小管重合核形成因子) や、微小管不安定化因子の変異が BOE を引き起こすことがわかった。さらに、驚いたことに、有糸分裂制御とは直接結びつかない、グルコース輸送・代謝経路に関わる遺伝子も BOE の原因遺伝子であった (グルコース輸送因子 Ght5 やプロテインキナーゼ A を含む)。実際、細胞を培養する培地のグルコース濃度を下げると、通常の培地では致死となるポロ様キナーゼ欠失株の生育が認められた。

この生存条件でどのタンパク質がポロ様キナーゼを代替しているのかを突き止める目的で、合成致死遺伝子スクリーニングを行った。その結果、別のタンパク質リン酸化酵素であるカゼインキナーゼ 1 (CK1) が必要であることがわかった。CK1 はこれまで主要な有糸分裂制御因子とはみなされていなかったが、本研究での変異体タイムラプス観察の結果、ポロ様キナーゼとは独立に微小管重合核形成を促進していることが示された。両キナーゼの同様の関係性はヒト HCT116 培養細胞株でも認められた。

本研究は、これまで報告の少ない BOE-mitosis の事例を報告すると共に、そのメカニズムも明らかにすることで、有糸分裂の新たな制御機構を見出した。BOE-mitosis が、グルコース濃度の低下といった、自然界でも起こりうる比較的単純な環境変化によっても実現しうることも明らかになった。

以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。