

平成22年 2月 8日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2011

課題番号：19710164

研究課題名 (和文) 分裂酵母の減数分裂特異的発現遺伝子群の包括的単離と機能解析

研究課題名 (英文) Functional analysis and comprehensive isolation of meiosis-specific genes in *Schizosaccharomyces pombe*.

研究代表者

奥崎 大介 (OKUZAKI DAISUKE)

大阪大学・微生物病研究所・助教

研究者番号：00346131

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・基礎ゲノム科学

キーワード：分裂酵母、減数分裂、生殖・分化、細胞周期、リン酸化

1. 研究計画の概要

生殖細胞の研究は必須かつ急務だがヒトや高等生物では倫理的・技術的な問題を抱える。この問題を克服するため、生殖・減数分裂の研究に分裂酵母をモデル生物とし十数年前より研究を続けている。“他段階差引法”という独自技術とゲノム情報を基盤とした網羅的解析によって減数分裂特異的に転写誘導される遺伝子群の包括的単離と機能解析を行い、哺乳動物にも存在する遺伝子を多数同定・解析することで哺乳動物の生殖メカニズムへの理解を目指す。

2. 研究の進捗状況

我々は多段差引法 (段階的サブトラクション法) を用いて、分裂酵母の減数分裂で特異的に転写される多数 (68 個) の non-coding RNA を単離した。次いで、これらと協調して機能する可能性のある RNA 結合タンパク質の機能解析を進めてきた。減数分裂期で特異的に発現誘導される *mug28* は RNA 認識モチーフを3つ持つタンパク質をコードする。*mug28* の mRNA と Mug28 タンパク質は減数第一分裂期から減数第二分裂期にかけて発現が誘導され、GFP-Mug28 は主に細胞質に局在していた。*mug28*破壊株は減数分裂へ誘導すると、野生株と比較して顕著に孢子生存率が低下した。その形状を観察すると半数以上が、4孢子が出来たあとで孢子壁が出芽したような異常な形態を示し、2ヶ (達磨状) あるいは3ヶ (串団子状) の孢子を形成していた。電子顕微鏡観察 (TEM) による解析により、*mug28*破壊株では孢子壁の厚い孢子や達磨状の形態が異常な孢子が数多く観察された。これらのことから、*mug28*破壊株では孢子成熟

に異常が見られると思われたので、前段階で生じる前孢子膜の形成について Psyl-GFP で可視化して破壊株の前孢子膜を詳細にタイムラプス観察によって調べてみた。その結果、4核を取り囲んだ前孢子膜から更に新たな前孢子膜が出芽して余分な前孢子膜が形成される様子が観察された。また *mug28*破壊株では前孢子膜の伸長を先導する Meu14 タンパク質の挙動にも異常が見られた。以上の結果から、Mug28 の機能は孢子壁の適正な成熟の制御であることが示唆された。Mug28 と結合する RNA が同定できれば減数分裂特異的な RNA の制御を通じた孢子壁の成熟という珍しい現象が詳細に解析できよう。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
(理由)

予定していた実験が順調に進み、その成果を学術論文として報告している為、ほぼ100%達成していると判断できる。

4. 今後の研究の推進方策

今後は単離と機能解析を行ってきた減数分裂特異的発現遺伝子群について様々な側面から機能的に相互作用する因子の同定進めていき、分子メカニズムの全貌の解明に迫りたい。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1) Okuzaki D, Shigehisa A, Kasama T, Tohda H, Hirata A, and Nojima H. Mug28, a

- meiosis-specific protein of *Schizosaccharomyces pombe*, regulates spore wall formation. *Molecular Biology of the Cell*, in press (2010), 査読有.
- 2) Ohtaka A, Okuzaki D, Nojima H. Mug27/Ppk35 is a meiosis-specific protein kinase that functions in fission yeast meiosis II and sporulation. *J. Cell Sci.*, vol. 121, No. 9, p1547-1558, 2008, 査読有.
- 3) Ohtaka A, Saito TT, Okuzaki D, Nojima H. Meiosis specific coiled-coil proteins in *Schizosaccharomyces pombe*. *Cell Div.*, Vol. 2, No. 14, 2007, 査読有
- 4) Yabuta N, Okada N, Ito A, Hosomi T, Nishihara S, Sasayama Y, Fujimori A, Okuzaki D, Zhao H, Ikawa M, Okabe M, Nojima H. Lats2 is an essential mitotic regulator required for the coordination of cell division. *J Biol Chem*, vol. 282, No. 26, p19259-19271, 2007, 査読有.
- 5) Ohtaka A, Okuzaki D, Saito TT, Nojima H. Mcp4, a meiotic coiled-coil protein, plays a role in F-actin positioning during *Schizosaccharomyces pombe* meiosis. *Eukaryot Cell.*, vol. 6, No. 6, p971-983, 2007, 査読有

[学会発表] (計2件)

- 1) 奥崎 大介、MUG28, A MEIOSIS-SPECIFIC PROTEIN OF *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*, REGULATES SPORE WALL FORMATION
The 5th International Fission Yeast Meeting
平成21年10月29日、国立オリンピック記念青少年総合センター (東京都)
- 2) 奥崎 大介、Fission yeast Arp1 facilitates meiotic nuclear oscillation via Dhcl and Mcp5. The 2008 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting.
平成20年7月23日、カナダ・トロント大学