

| | |
|---------|---|
| 氏名 | 茅野 文子 |
| 授与した学位 | 博士 |
| 専攻分野の名称 | 理学 |
| 学位授与番号 | 博甲第4774号 |
| 学位授与の日付 | 平成25年 3月25日 |
| 学位授与の要件 | 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当) |
| 学位論文の題目 | Genetic tug-of-war analysis of the robustness of cell cycle regulation in fission yeast (遺伝子綱引き法を用いた分裂酵母細胞周期のロバストネスに関する研究) |
| 論文審査委員 | 教授 沓掛 和弘 教授 多賀 正節 准教授 阿保 達彦 |

学位論文内容の要旨

細胞システムには、環境の変化、変異、ノイズなどによる遺伝子発現の変化をある程度まで許容し、細胞の機能を維持しようとする能力（ロバストネス）が存在していると考えられる。遺伝子綱引き（gTOW）法は、「コピー数の上限値を指標として、個々の遺伝子を過剰発現させたときに、細胞システムはどこまで耐えられるか（遺伝子の過剰発現に対する細胞システムのロバストネス）」を測定できる遺伝学的実験法である。出芽酵母においては、この方法を用いて細胞周期関連遺伝子 30 個のコピー数の上限値が測定され、細胞周期のロバストネス・プロファイルが作成されている。本研究では、出芽酵母と同じ単細胞真核生物である分裂酵母で gTOW 法を開発し、これを用いて得られた分裂酵母細胞周期関連遺伝子のコピー数上限値をもとに、出芽酵母と分裂酵母のロバストネス・プロファイルを比較した。

分裂酵母において gTOW 法を開発するにあたり、まず初めに標的遺伝子をシステムティックにクローニングする必要がある。そこで、Gap-Repair Cloning (GRC) 法を確立した。この方法によれば、相同領域の長さやプラスミド側の切断部位にかかわらず、ほぼ 70% の確率でクローニングできることが明らかになった。

次に、分裂酵母で gTOW 法を確立し、細胞周期関連遺伝子 31 個のコピー数の上限値を測定した。その結果、遺伝子によって 1-150 コピーまで様々であることが明らかになった。このことから、個々の遺伝子の過剰発現に対する細胞システムのロバストネスは多様であることが示唆された。決定されたコピー数の上限値を出芽酵母の相同遺伝子の場合と比較した結果、細胞周期のロバストネス・プロファイルに類似点と相違点があることが明らかになった。類似点は B 型 CDK の制御に脆弱性があること（制御因子のコピー数の上限が低い）であり、このことは真核生物に共通して保存された脆弱なコアが存在する可能性を示唆している。一方、相違点は細胞質分裂を司る遺伝子の上限が相同遺伝子の間で大きく異なることであり、これは分裂様式の違いを反映しているものと考えられる。

最後に、これらの遺伝子コピー数の上昇がタンパク質発現量の増加に反映されているか否かを定量的に調べた。その結果、多くの遺伝子はコピー数の上昇にともないタンパク質発現量も増加していた。したがって、分裂酵母の遺伝子発現システムにおいては、多くの場合、遺伝子量補償は起こっていないものと考えられる。一方で、一部の遺伝子のコピー数の上昇はタンパク質発現量の増加をともなわなかった。これらの遺伝子の発現システムにはフィードバックが存在するものと考えられる。

以上の結果は、gTOW 法により得られたロバストネス・プロファイルが様々な細胞システムの特性を捉える際に有効な情報となりうることを示唆するものである。また、この手法を用いることで、遺伝子発現システムに存在するフィードバックの同定をより能率的に行うことができるようになると考えられる。

論文審査結果の要旨

細胞システムには、環境の変化、変異、ノイズなどによる遺伝子発現の変化をある程度まで許容し、細胞の機能を維持しようとする能力（ロバストネス）が存在している。遺伝子綱引き（gTOW）法は、「コピー数の上限値を指標として、個々の遺伝子を過剰発現させたときに、細胞システムはどこまで耐えられるか（遺伝子の過剰発現に対する細胞システムのロバストネス）」を測定できる遺伝学的実験法である。本論文は、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* で gTOW 法を確立し、これを用いて細胞周期関連遺伝子のコピー数上限値を求め、その結果に基づいてロバストネス・プロファイルを解析した研究成果をまとめたものである。

分裂酵母において gTOW 法を開発するにあたり、まず初めに標的遺伝子をシステムティックにクローニングするための Gap-Repair Cloning (GRC) 法を確立した。次に、分裂酵母で gTOW 法を確立し、細胞周期関連遺伝子 31 個のコピー数の上限値を測定した。決定されたコピー数の上限値を出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の相同遺伝子の値と比較した結果、細胞周期のロバストネス・プロファイルに類似点と相違点があることが明らかになった。この結果は、真核生物に共通して保存された脆弱なコアが存在することを示唆するとともに、両酵母間での分裂様式の違いを反映したものであると考えられる。最後に、これらの遺伝子コピー数の上昇がタンパク質発現量の増加に反映されているか否かを調べた。その結果、多くの遺伝子はコピー数の上昇にともないタンパク質発現量が増加していた。したがって、多くの場合、遺伝子量補償は起こっていないものと考えられる。一方で、一部の遺伝子のコピー数の上昇はタンパク質発現量の増加をとまなわなかった。これらの遺伝子の発現システムにはフィードバックが存在するものと考えられる。

以上の研究成果は、gTOW 法により得られたロバストネス・プロファイルが細胞システムの特徴を捉える際に有効な情報となりうることを示すものであり、分子遺伝学分野の発展に寄与し、学術上の貢献が大きいものであると評価される。したがって、審査員一同は、本論文が博士（理学）の学位論文に値するものであると判断した。