

論文内容の要旨

博士論文題目 Characterization of yeast mutants exhibiting abnormal nuclear morphology or defects in intracellular protein transport.

氏 名 Lim Chun Ren

The green fluorescent protein (GFP) is fused to a nucleoprotein from *Xenopus laevis*, nucleoplasmin (NP), and constitutively expressed in *Saccharomyces cerevisiae* under *ADH1p*. The fusion protein (GFP-NP) accumulates in the nucleus and therefore allows an efficient and detailed visualization of yeast nuclei. Nevertheless, GFP matures into a fluorescent molecule poorly at temperatures above 30°C but once attaining the fluorescent conformation, constant fluorescence could be observed. The properties of GFP are utilized to reveal a novel mutant phenotype in a temperature sensitive (ts) yeast nucleoporin mutant *nsp1*. To detect the fluorescence of GFP-NP synthesized following a shift to 37°C, GFP-NP is expressed inducibly via *GAL1p*. Therefore, 2 screening systems have been constructed : the *ADH1p* system and the *GAL1p* system, cater for screenings of nuclear morphology mutants and nuclear transport defective mutants, respectively.

In the screening using *GAL1p*, mutants of *PRP20* were isolated. *PRP20* is the homologue of mammalian *RCC1*, which is an essential factor in nuclear transport. In the screening using *ADH1p*, four ts mutants exhibiting abnormal nuclear morphology (*anu*) were isolated. Among them, a previously uncharacterized gene complements *anu2-1*. Electron microscopic analysis and the block in transport of carboxypeptidase of *anu2-1* cells indicated that *ANU2* is involved in vesicular transport between the ER and the Golgi. Anu2p is a 34kDa polypeptide, sharing 20% homology to the mammalian coatamer ϵ -COP. Although *ANU2* is non-essential, gene disruption confers temperature sensitivity growth.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Lim Chun Ren

本論分の主要な成果は以下に要約される。

(1) クラゲ由来の緑色蛍光タンパク質 (GFP) の蛍光形成は、高温感受性を示すことを明らかにするとともに、GFPと核タンパク質であるヌクレオプラスミンとの融合タンパク質を出芽酵母で発現させると核に局在し、核形態を生細胞で容易に可視化できることを示した。また上記の性質を利用することにより、出芽酵母から核輸送および核形態異常を示す変異株を取得する新しい変異株スクリーニング系を確立した。

(2) 上述したスクリーニング系を用いることにより、タンパク質の核輸送に PRP20 遺伝子 (GTP-GDP 交換因子、動物の RCC1 にあたる) が関与していること、核形態異常を引き起こす変異株の解析から、小胞体-ゴルジ体間小胞輸送に関与する酵母新規遺伝子 ϵ -COP を同定した。さらにこの結果から、小胞体の膜形成異常が核の形態維持に大きな影響を与えることを示した。

以上のように、本論文は、新生 GFP が蛍光型になる効率が著しく温度感受性であることを初めて明らかにするとともに、その性質を利用し出芽酵母において核輸送や核の形態維持に関与する遺伝子を同定、その生理機能を解析したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。