

酵母の形態形成と細胞増殖との連携制御機構

－シグナル伝達分子と新規連携制御系－

平田 大

(広島大学大学院・先端物質科学研究科)

1. 研究のねらい

細胞形態制御は、細胞増殖（分化・細胞周期）と連動している。細胞形態は、細胞内外の多様な変化に応答するシグナル伝達経路によって制御される。それら多様なシグナルの最終到達点は、一細胞そのものであることから、形態形成を理解する上で、単一細胞における形態形成制御機構の理解が重要である。本研究では、出芽によって増殖する酵母と分裂によって増殖する酵母を使って、形態形成と細胞増殖とを連携制御する機構、具体的には、シグナル伝達経路を構成する分子や新規連携制御系の同定を目指した。

2. 研究成果と考察

2-1. Ca^{2+} シグナル伝達経路による細胞周期制御機構（出芽酵母）

Ca^{2+} シグナル伝達経路は、形態形成における変化（細胞膜ストレッチなどの細胞膜の生理変化）に応答し、Swe1 キナーゼ（細胞周期エンジンの負の制御因子）を活性化し細胞周期M期開始を抑制する。遺伝解析により、 Ca^{2+} シグナル伝達経路で機能する新たな分子としてGSK-3キナーゼ・Mck1を同定した。解析の結果、高濃度の Ca^{2+} 存在下で、Hsl1キナーゼ（Swe1の負の制御因子）が、出芽ネックから細胞質に移動しSCF-Cdc4依存的に分解されること、さらに、この機構に、Mck1とカルシニューリンが協調的に働くことを示した（Mizunuma et al, 2001）。

2-2. タンパク質合成阻害により誘導される成長極性変換の阻害（分裂酵母）

分裂酵母の細胞周期G2期0.34の時期に、成長極性が単極から両極へと変換するNETO（New End Take Off）という現象が起こる。NETO遂行の条件は、DNA複製の完了とある一定の細胞サイズへの到達であることから、この時期に、両者をモニターし形態形成と細胞周期とを連携制御する機構が存在する。今回、分裂酵母において、タンパク質合成阻害により、NETO遅延（単極成長細胞の蓄積、成長極性変換の阻害）が起こることを見いだした。また、この際、M期開始の阻害にWee1キナーゼ（細胞周期エンジンの負の制御因子）が重要であることを示した（Suda et al, 2000）。

2-3. 極性異常により誘導される細胞周期遅延（分裂酵母）

形態形成と細胞増殖との連携制御機構を解析するため、円筒状の分裂酵母野生株より、温度感受性の極性異常（球形）変異体の取得を試みた。その中の一つ *mor2*変異の原因遺伝子は、新規タンパク質をコードする。解析の結果、Mor2はアクチンの細胞端への局在、細胞質微小管末端の位置決定に重要であることが示唆された。また、*mor2*変異の成長極性異常は、細胞周期G2期遅延を誘導した。さらに、この増殖停止と生存率の維持に、Wee1キナーゼが必須であることがわかった。

2-4. 形態形成関連分子の同定（分裂酵母）

形態形成関連分子を同定するため、過剰発現により形態異常を引き起こす遺伝子の系統的スクリーニングを行った結果、タンパク質合成に必須なペプチド鎖伸長因子（EF1 α ）の過剰発現が、成長極性制御系（アクチンや微小管）に影響をおよぼし、細胞形態異常を引き起こすことを示した（Suda et al, 1999）。また、温度感受性の形態異常変異体の解析から、 α -グルカン合成酵素Mok1がPKCの下流で、成長領域へのアクチンの局在に重要な機能をもつこと（Katayama et al, 1999）、微

小管重合補助因子群が成長極性の方向維持に重要であることを示した (Radcliffe et al., 1999)。

2.5. 考察 (今後の展望)

本研究では、出芽・分裂両酵母における形態形成と細胞増殖との連携制御機構、とくにシグナル伝達分子と新規連携制御系の同定を目指した。制御系の全体像はいまだ不明であるが、シグナル伝達分子、形態形成関連分子、新規制御機構の一部に到達した。今後は、形態異常シグナルの発生と認識のメカニズム、また、異常体から正常体への形態再形成のメカニズム、さらに、単細胞で見いだされた制御系の進化上の保存性について研究を展開したい。

3. 主な論文

1. Suda, M., Fukui, M., Sogabe, Y., Sato, K., Morimatsu, A., Arai, R., Motegi, F., Miyakawa, T., Mabuchi, I., and Hirata, D. (1999). Overproduction of elongation factor 1α , an essential translational component, causes aberrant cell morphology by affecting the control of growth polarity in fission yeast. *Genes Cells* 4, 517-527.
2. Katayama, S., Hirata, D., Arellano, M., Perez, P., and Toda, T. (1999). Fission yeast α -glucan synthase Mok1 requires the actin cytoskeleton to localize the sites of growth and plays an essential role in cell morphogenesis downstream of protein kinase C function. *J. Cell Biol.* 144, 1173-1186.
3. Radcliffe, P.A., Hirata, D., Vardy, L., and Toda, T. (1999). Functional dissection and hierarchy of tubulin-folding cofactor homologues in fission yeast. *Mol. Biol. Cell* 10, 2987-3001.
4. Suda, M., Yamada, S., Toda, T., Miyakawa, T., and Hirata, D. (2000). Regulation of Wee1 kinase in response to protein synthesis inhibition. *FEBS Letters* 486, 305-309.
5. Mizunuma, M., Hirata, D., Miyaoka, R., and T. Miyakawa. (2001). GSK-3 kinase Mck1 and calcineurin coordinately mediate Hsl1 down-regulation by Ca^{2+} in budding yeast. *EMBO J.* 20, 1074-1085.

4. その他

受賞：酵母の細胞増殖に必須な機能分子に関する研究、農芸化学会奨励賞 (日本農芸化学会)
1999年3月

招待講演：3件 (国内)