

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 分裂酵母 *Ecl1* ファミリー遺伝子は、亜鉛および鉄枯渇による性分化誘導に関わる

氏名 石田 麻衣子

論文内容の要旨

分裂酵母は、直径約 $4\mu\text{m}$ 、長さ約 $10\mu\text{m}$ 程度の単細胞の真核生物である。遺伝学的操作が容易である点など多様な利点があることから、出芽酵母と同様にモデル生物として広く使用されている。分裂酵母は、窒素源や炭素源などの栄養源が枯渇すると細胞分裂・成長を停止し、2つの異なる接合型をもつ細胞同士が接合し、胞子を形成する。

本研究は、高発現をすると経時寿命を延長する *ec11⁺*、*ec12⁺*、*ec13⁺* 遺伝子が当研究室で発見されたことが発端になっている。経時寿命とは、非分裂細胞の生存率・生存期間として定義され、液体培地を用いた回分培養における増殖定常期の生存率を計測することで解析できる。当研究室では、*ec11⁺*、*ec12⁺*、*ec13⁺* 経時寿命延長遺伝子を総称して *Ecl1* ファミリー遺伝子と呼んでいる。*Ecl1* ファミリー遺伝子は新規遺伝子群であり、その機能の詳細はいまだ解明されていない。

これまでに、*Ecl1* ファミリー遺伝子が関与する表現型として、経時寿命延長の他に、性分化の誘導を見つけた。窒素源枯渇下で、分裂酵母野生株と比べて各々 *ec11⁺*、*ec12⁺*、*ec13⁺* 遺伝子を過剰に発現した株で、接合率や胞子形成率の上昇が見られた。私はこのことから、*Ecl1* ファミリー遺伝子の機能を性分化の側面から明らかにすることを試みた。

本研究で明らかにしたこと

1. 亜鉛及び鉄枯渇下で性分化が誘導されること、この過程に *Ecl1* ファミリー遺伝子が重要な役割を果たすことを明らかにした。

分裂酵母野生株は、分裂酵母最少培地で培養し続けると定常期へと移行する。定常期に移行する際、栄養源の枯渇や代謝産物の蓄積により細胞分裂・増殖が停止し、見かけ上の細胞増殖が見られなくなる。

分裂酵母野生株は、定常期に移行後、接合誘導を引き起こす。それと比べて、Ecl1ファミリー遺伝子欠損株($\Delta ecl1/2/3$ 株)は接合誘導を引き起こさなかった。野生株における性分化誘導の原因は、いくつか考えられる。まず、分裂酵母は、窒素源枯渇、炭素源枯渇、加えて接合フェモンに応答することで性分化誘導が引き起こされることが知られている。また、定常期の移行後に性分化誘導が引き起こされることから、定常期移行後におこる代謝産物の蓄積が性分化誘導の原因とも考えられた。最も代表的な性分化誘導は、炭素源もしくは窒素源の枯渇であり、分裂酵母において実験系が確立されている。そのため、培養し続けることにより、窒素源もしくは炭素源が枯渇することで、野生株で定常期移行後に接合誘導が引き起こされる可能性があると考えた。そしてその現象に Ecl1 ファミリー遺伝子が重要な役割を果たすのではないかと考えた。しかし、解析の結果、 $\Delta ecl1/2/3$ 株でも、窒素源枯渇下や炭素源枯渇下において $\Delta ecl1/2/3$ 株でも、野生株と同様に性分化誘導が引き起こされた。種々の栄養素が枯渇する定常期では不稔性を示す $\Delta ecl1/2/3$ 株が、窒素源や炭素源のみの枯渇では不稔性を示さなかったため、これら以外の栄養素の枯渇が性分化を誘導し、この過程において Ecl1 ファミリー遺伝子が重要な役割を果たすのではないかと考えた。そのため各成分を枯渇させた培地で、それぞれ接合率や孢子形成率を測定した。様々な成分の中で、分裂酵母野生株において、微量金属類を枯渇させると定常期と同様に接合率や孢子形成率が上昇することを観察した。一方、分裂酵母最少培地の微量金属類には、ホウ素、マンガン、亜鉛、鉄、モリブデン、ヨウ素、銅の7つの成分が含まれている。さらにこれら成分のうち何が性分化誘導を引き起こしている原因かを明らかにするために、各微量金属元素を枯渇させて接合率を計測した。その結果、亜鉛もしくは鉄の枯渇下で性分化誘導が引き起こされることがわかった。加えて、この条件下で $\Delta ecl1/2/3$ 株では性分化誘導が起こらなかったため、亜鉛や鉄枯渇下の性分化誘導に Ecl1 ファミリー遺伝子が重要な役割を果たすことが明らかになった。

2. Ecl1 ファミリータンパク質が、亜鉛センサーとして機能する可能性を見出した。

1.で述べたように、亜鉛枯渇条件下で性分化誘導がされることがわかった。その結果をもとに、亜鉛枯渇下で発現が上昇することが知られている2つの遺伝子で解析を行った。1つは、亜鉛トランスポーターをコードする遺伝子 *zrt1+*、もう1つは機能未知の遺伝子 *spbc1348.06c+*である。これら遺伝子の発現量を野生株と $\Delta ecl1/2/3$ 株で解析した。過去の報告と同様に、環境中の亜鉛濃度を減らした時に、分裂酵母野生株で *zrt1+*、*spbc1348.06c+*の遺伝子発現量が上昇した。しかし、この発現上昇は $\Delta ecl1/2/3$ 株では起こらなかった。これより、性分化誘導だけでなく、Ecl1 ファミリー遺伝子は亜鉛トランスポーターなどの発現にも関与することから、Ecl1 ファミリータンパク質が亜鉛枯渇を感知する亜鉛センサーとしての役割を果たす可能性が示唆された。

3. Ecl1 ファミリー遺伝子は、亜鉛枯渇下における性分化誘導で G1 期停止に重要な

役割を果たす。

通常、分裂酵母は窒素源が枯渇すると、細胞周期が G1 期で停止し、性分化過程へと移行する。そのため、亜鉛枯渇下においても細胞周期が G1 期で停止をし、性分化誘導が促進されるのではないかと考えた。亜鉛枯渇後の時間経過と細胞周期の関係を調べるため、野生株と $\Delta ec11/2/3$ 株を亜鉛枯渇下で培養した細胞を用いてフローサイトメトリー解析を行った。その結果、野生株は時間経過とともに G1 期で停止をしたが、 $\Delta ec11/2/3$ 株においては G1 期での停止は見られなかった。そのため、亜鉛枯渇下における性分化経路において、Ecl1 ファミリータンパク質は、G1 期で細胞周期が停止する機構にも重要な役割を果たすことがわかった。

4. まとめ

性分化には、代表的な 4 つの経路が知られている。cAMP-PKA 経路、TOR (target of rapamycin) 経路、Spk1-MAP キナーゼ経路、Sty1 ストレス応答 MAP キナーゼ経路である。これら 4 つの経路は、窒素源枯渇・炭素源枯渇・接合フェロモンなどのシグナルによって誘導されることがわかっており、詳細について明らかにされつつある。本研究では、亜鉛もしくは鉄枯渇下で性分化が誘導されること、これに Ecl1 ファミリー遺伝子が重要な役割を果たすことを新たに発見した。これら枯渇条件下でのシグナル経路を明らかにし、Ecl1 ファミリー遺伝子の機能を明らかにする必要がある。亜鉛枯渇条件下においては、Ecl1 ファミリータンパク質依存的に G1 期で細胞周期が停止後、性分化誘導が起こることがわかった。今後は、主に亜鉛枯渇下において、Ecl1 ファミリー遺伝子がどのような経路をたどって性分化誘導を行っているかを解明していく必要がある。