

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 石田 麻衣子

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

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	饗場	浩文
委員	名古屋大学教授	人見	清隆
委員	名古屋大学助教	大塚	北斗

論文審査の結果の要旨

石田麻衣子は分裂酵母を研究対象として、性分化における経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリーの機能解析を試みた。一連の研究成果をとりまとめ、以下に示す内容の博士学位論文を作成・提出した。

亜鉛及び鉄枯渇が新しい性分化シグナルであることを発見し、この過程に経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリーが重要な役割を果たすことを明らかにした

石田麻衣子は、分裂酵母野生株を最少培地で培養し続けると定常期へと移行し、性分化（接合、減数分裂、孢子形成）が誘導されるのに対し、経時寿命延長因子 Ecl1 ファミリーの欠損株($\Delta ec11/2/3$ 株)ではこれが起こらないことを発見した。そこで、本誘導に関わるシグナルの同定と機構の解明を進めた。これまで分裂酵母では、窒素源の枯渇、グルコースの枯渇に応答して性分化を行うことが知られていたため、当初 $\Delta ec11/2/3$ 株では、定常期における窒素源やグルコースの枯渇に応答できないため性分化が起こらないことが想定された。しかしながら、 $\Delta ec11/2/3$ 株は、窒素源枯渇やグルコース枯渇に対しては野生株とほぼ同様に性分化を誘導することを見出した。このことは、定常期においては、未同定の栄養素が枯渇することで性分化が誘導されること、この誘導に Ecl1 ファミリーが重要な役割を果たすことを示唆した。そこで未同定の栄養素の同定を試みた。最少培地の成分を個々に欠乏させた培地を用いて種々の解析を行ったところ、亜鉛もしくは鉄の枯渇によって、分裂酵母野生株は性分化を誘導するものの、 $\Delta ec11/2/3$ 株では誘導が起こらないことを観察した。したがって、亜鉛や鉄枯渇に応答した性分化誘導に Ecl1 ファミリーが重要な役割を果たすことが明らかにした。

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ことを見出した

上述のとおり、亜鉛の枯渇は性分化誘導のシグナルであることが示されたので、 $\Delta ec11/2/3$ 株が亜鉛欠乏に応答して性分化を行わない理由を解析した。そのため、亜鉛枯渇で発現が上昇することが知られている 2 つの遺伝子の発現解析を行った。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 $\Delta ec11/2/3$ 株で解析したところ、培地中の亜鉛濃度を減らした時に、分裂酵母野生株では両遺伝子の発現が上昇したのに対し $\Delta ec11/2/3$ 株では上昇しないことを見出した。従って、Ecl1 ファミリーは、亜鉛枯渇に応答した亜鉛トランスポーターなどの発現に関与し、その際 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。

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

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ことが知られている。そこで、亜鉛枯渇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想定された。そこで、野生株と $\Delta ecl1/2/3$ 株について亜鉛枯渇後の時間経過と細胞周期の関係をフローサイトメトリー解析にて調べた。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、 $\Delta ecl1/2/3$ 株においては G1 期での停止は見られなかった。性分化は G1 期で細胞周期が停止することが必要であると考えられているので、 $\Delta ecl1/2/3$ 株が亜鉛枯渇に反応して性分化を起こさない理由が、G1 期停止不全であることが示唆された。このように Ecl1 ファミリータンパク質は、亜鉛枯渇に反応した性分化経路において、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を示した。

成果のまとめ

これまで分裂酵母の性分化には、代表的な 4 つの経路が知られていた。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、性分化に必要な既知のシグナルの伝達に関わることがわかっており、情報も蓄積していた。本研究では、上記以外に、亜鉛もしくは鉄の枯渇が性分化を誘導するシグナルであること、これに Ecl1 ファミリーが重要な役割を果たすことを発見した。最少培地で培養した分裂酵母が定常期に進入後、性分化を起こすシグナルは、亜鉛の枯渇である可能性も示唆することができた。亜鉛枯渇は、亜鉛トランスポーターの発現を介した亜鉛恒常性の維持に加え、細胞周期の G1 期停止ならびに性分化を誘導するシグナルとして機能することが示された。またこれら亜鉛枯渇に対する細胞応答は、どれも Ecl1 ファミリーに依存しており、Ecl1 ファミリーは亜鉛のセンサーとして機能することが示された。今後、亜鉛枯渇の情報伝達と細胞応答において Ecl1 ファミリーがどのように働くのかその具体的機構の解明が望まれる。

以上、石田麻衣子は、分裂酵母の性分化に関して、新しい分化誘導シグナルを発見すると共に、その機構の一部を明らかにした。本研究成果により、性分化と細胞寿命制御を関連付ける知見が蓄積し、当該分野の進展に貢献した。これらの成果を踏まえ審査委員会は本論文の内容が博士（創薬科学）の学位論文として十分に価値あるものと認め、論文審査に合格と判定した。