

総 説

細胞周期の分子遺伝学的解析：分裂酵母を用いた研究

三宅 早苗

東邦大学医学部生化学講座

要約：細胞周期には、DNA 複製を行う S 期と細胞分裂を行う M 期とがあり、その前にそれぞれ G1 期と G2 期とが存在する。細胞周期が 1 周回ごとに細胞は倍加する。細胞が分裂して増加することは、成長の基本である。また、発生や再生の基本でもあり、これらのメカニズムを明らかにすることはがんを理解するうえでも非常に重要である。細胞周期の解析には数々の生物種が用いられてきたが、単細胞の真核生物である酵母も大きな貢献をした。細胞周期進行の機構は酵母からヒトに至るまで広く保存されているため、酵母で新しく得られた知見は高等真核生物にも応用でき、これにより細胞周期の研究が大きく進展した。本総説では、酵母にはどのような特徴があるのか、また、酵母を用いることによりどのような研究を行うことができるのかを紹介する。

東邦医学会誌 61(2) : 92-94, 2014

KEYWORDS : cell cycle, yeast, *cdc2*

細胞周期の研究はさまざまな生物種を用いて生物種ごとに独立に行われてきたが、それぞれの研究内容が 1 つに集約されていき、急速に発展をとげた¹⁾。2001 年にノーベル医学生理学賞が「細胞周期の主要な制御因子の発見」により、出芽酵母の解析を行った Hartwell LH、分裂酵母の解析を行った Nurse P、ウニの解析を行った Hunt RT の 3 名に授与されている。酵母を用いた研究が細胞周期の理解に大きな貢献を行ったことがわかる。

本総説では、医学部になじみが薄い酵母について、どのような解析がなされたのかを中心に解説する。

酵母を用いた分子遺伝学的解析

酵母にはさまざまな種類があるが、細胞周期の研究に用いられている酵母は主に、出芽酵母である *Saccharomyces cerevisiae* と、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* である。

これらの酵母は一倍体で安定して生育できるという特徴がある。酵母には異なる接合型をもつ 2 種類の細胞が存在し、異なる接合型の細胞同士が接合して二倍体を形成する。二倍体はその状態でも安定して存在できるが、ある条件下

では 1 度の DNA 複製の後 2 度の減数分裂を経て一倍体の胞子を 4 つ生じる。それぞれの胞子から発芽して増殖した細胞は、一倍体として安定して生育していく。このように、一倍体での生育、二倍体での生育、胞子形成の過程が存在し、それぞれの状態は培養条件を変えることにより容易に移行させることができる。

一倍体においては、遺伝子の変異がすぐに表現型として現れるため、変異株の単離に有用である。表現型をもとにさまざまな変異株を単離し、その遺伝子を同定することにより、ある事象に関与する遺伝子を検索することができる。また、相同的組み換えを用いて染色体上の遺伝子を操作でき、遺伝子破壊株や改変した遺伝子をもつ株の作製も容易に行える。さらに、このような変異を持つ細胞同士を組み合わせることにより複数の変異をもつ細胞を得ることができ、遺伝子間の関係の解析を行うことができる。

また、変異株に新たな変異を生じさせ、表現型が正常に戻った株を単離することにより、最初に変異を生じていた遺伝子と機能的に関連のある遺伝子を検索することができる。この場合、新たに生じた変異のことを、最初に生じて

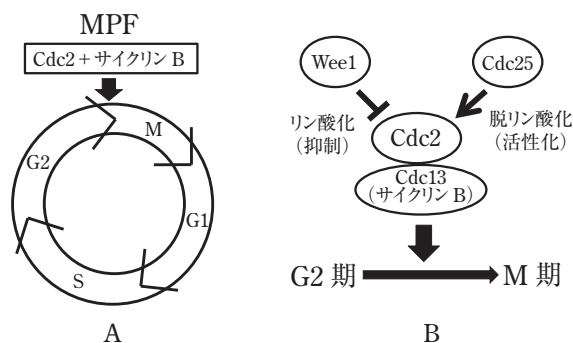


図1 A. 細胞周期の概念図. G2期からM期への移行にCdc2とCdc13(サイクリン)からなるMPFが働く. B. MPFを制御する因子. Wee1はCdc2をリン酸化することにより活性を抑制する. Cdc25はCdc2を脱リン酸化することにより活性化する.

MPF: maturation/M-phase promoting factor

いる変異の抑圧変異とよぶ. 分子生物学的手法を用い, プラスミドに載せた遺伝子のライブラリーを変異株に導入し, 変異の形質を正常に戻す遺伝子を単離することもできる. この場合, 変異した遺伝子と同じ遺伝子が単離される場合もあるが, 異なる遺伝子の時にはこのような遺伝子であることを多コピー抑圧遺伝子とよぶ.

このように, 酵母を用いることにより, 1つの事象に関与する多くの新たな遺伝子を機能的に検索することが容易に行え, さらにその遺伝子と機能的に関連のある遺伝子を単離することが可能である.

酵母を用いた *cdc* 変異株の単離

酵母を用いた細胞周期の研究について説明する. 1973年にHartwell et al.により出芽酵母から, 1976年にはNurse et al.により分裂酵母から細胞周期に異常を持つ変異株が単離され, cell division cycle (*cdc*) 変異株と名付けられた²⁾. それぞれ細胞周期の研究に新たな概念をもたらしたが, 本総説では分裂酵母について説明する.

細胞周期などの生育に必須な機能に異常を生じた場合, その細胞は生育不能となることが多い. そのため, 条件付きの変異株を用いる. Nurse et al.は, *cdc* 変異株を25°Cでは正常に生育するが, 36°Cでは致死となる高温感受性株として単離した. つまり, ある遺伝子が, 25°Cでは正常に機能するが, 36°Cになると機能しなくなる変異株である. 遺伝学的解析により, 得られた変異株のうちから, 1つの遺伝子座の変異により表現型が現れているものを選び, さらにこれらの変異株を14個の遺伝学的相補群(すなわち14個の遺伝子)に分類した. 現在では, さらなる変異株の単離が行われ, 既に100を超える遺伝子が同定されている.

cdc2 遺伝子の単離

細胞周期 *cdc* 変異株に分裂酵母ゲノムライブラリーを導入し, 形質を正常に戻す遺伝子であることを指標に *cdc* 遺伝子が単離された. 多くの *cdc* 遺伝子が単離されたが, その1つに *cdc2* 遺伝子がある. *cdc2* 遺伝子産物は, 細胞周期エンジンとして単離された最初の因子であり, 後に細胞周期のいくつかの時期で同様の因子が働いていることが明らかとなった, 重要な因子である.

Nurse et al.は, 出芽酵母においても, 分裂酵母の *cdc2* 遺伝子と同じ機能を持つ遺伝子がないかと考え, 分裂酵母 *cdc2* 変異株に出芽酵母の遺伝子ライブラリーを導入した. すると, 出芽酵母 *CDC28* 遺伝子を導入された *cdc2* 変異株は正常に増殖した. これにより, 出芽酵母 *CDC28* 遺伝子は, 分裂酵母 *cdc2* 遺伝子と同じ機能を持つことが示された. さらに, ヒトの cDNA ライブラリーを分裂酵母の *cdc2* 変異株に導入したところ, *cdc2* 変異株を正常形質に戻す cDNA がみつかった³⁾. つまり, ヒトにも *cdc2* 遺伝子と同じ機能を示す遺伝子が存在していたのである.

出芽酵母, 分裂酵母, ヒトのこれらの遺伝子から予想されるタンパク質は, 約34 kDの大きさのタンパク質リン酸化酵素であり, それらのアミノ酸配列は60%以上が同一アミノ酸であり, 非常に良く似ていた. これにより, 細胞周期に関する遺伝子は, 酵母からヒトに至るまで同様の遺伝子が存在し, その機能もよく保存されていることが明らかとなった.

酵母から広がる世界

細胞周期の解析は, 酵母だけではなくさまざまな生物種を用いて進められていた. アフリカツメガエルの卵を用いた研究からは, M期の細胞質中に, 細胞周期をG2期からM期に進行させるM期促進因子(maturation/M-phase promoting factor: MPF)が存在することが示され, また, ウニの初期胚においては, 細胞周期に同調して量が変動するタンパク質が発見されサイクリンと名付けられた.

MPFが精製され, 2つのサブユニットからなることが示されたが, その1つが, 先の分裂酵母で単離されたCdc2であり, もう1つがウニで発見されたサイクリンであった⁴⁾(図1A). サイクリンは, 分裂酵母でもすでにCdc13として単離されており, 遺伝学的にもCdc2と関係のあるタンパク質として知られていた. このように, M期への移行に重要な役割をはたすMPFは, Cdc2とCdc13からなるタンパク質であることが示され, さまざまな生物種から単離されたタンパク質が, 種を超えて同一であることが明らかとなった.

さらに, 酵母の変異株を用いた解析から, Cdc2と関係のある因子としてCdc25やWee1が単離されており, MPF

タンパク質の活性を前者は正に、後者は負に制御する因子であることが明らかとなった (図 1B)。今では、ヒトに至るまでさまざまな生物種で *cdc2* 相同遺伝子、サイクリン遺伝子のみならず、*cdc25*、*wee1* などの遺伝子も単離されている。細胞周期のさまざまな時期に働く Cdc2 類似のリン酸化酵素 (cyclin-dependent kinase : CDK) も次々と発見され、時期ごとに異なる種類のサイクリンが CDK に結合することも明らかとなった。

このように酵母は、新たな遺伝子の発見、それに関連する遺伝子の発見により、細胞周期の研究に大きな役割を果たしてきた。細胞にとって重要な遺伝子は種を超えてよく保存されていることが多く、酵母は遺伝子のレベルから生命を理解するうえでの非常に良いモデル生物であるといえ

よう。

文 献

- 1) Murray A, Hunt T : 細胞周期の分子生物学 (岸本健雄, 山下茂監訳) メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, 1995 [*The Cell Cycle: An Introduction*, Oxford Univ Press, Oxford, 1993]
- 2) Nurse P, Thuriaux P, Nasmyth K: Genetic control of the cell division cycle in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Mol Gen Genet* **146**: 167-178, 1976
- 3) Lee MG, Nurse P: Complementation used to clone a human homologue of the fission yeast cell cycle control gene *cdc2*. *Nature* **327**: 31-35, 1987
- 4) Gautier J, Norbury C, Lohka M, et al: Purified maturation-promoting factor contains the product of a *Xenopus* homolog of the fission yeast cell cycle gene *cdc2*⁺. *Cell* **54**: 433-439, 1988