

研 究 報 告 書

「核・細胞質間コミュニケーションと微小管の連携機構の解明」

研究期間：平成 20 年 10 月～平成 24 年 3 月

研 究 者：佐藤 政充

1, 研究のねらい

分裂中の細胞では、遺伝情報を正確に後世に伝えるために、微小管と呼ばれる繊維状の構造体が染色体を正確に2個の細胞に分配している。微小管の異常は細胞の癌化または細胞死を引き起こすため、その制御は細胞にとって重要な課題である。細胞が分裂しない時期（間期）には、微小管は細胞質に網目状に形成されて、物質の運搬や細胞極性の確立に不可欠の役割を担う。これに対して分裂期に突入する際に、微小管は紡錘体（スピンドル）微小管へとその姿を激変させる。この形態変化は細胞分裂にとって最も重要な現象のひとつであるにもかかわらず、その分子メカニズムはほとんど知られていない。そこでその分子メカニズムを探るためのアプローチを試みた。

2, 研究成果

本目的を達成するために、30 種類以上知られる微小管関連因子のなかのどの因子が、微小管構造の劇的な再構成を起こしているのか、その分子メカニズムに迫った。

前述のように間期では微小管は細胞質に形成され、核内には形成されない。最初に我々は、間期の細胞であるにもかかわらず、分裂期のように核内に微小管を形成してしまう突然変異体の単離を試みた。すなわち、伝統的な酵母の突然変異体を単離する方法に則り、酵母の野生型細胞に化学変異原による突然変異を誘発し、核内に微小管が形成されてしまう変異体を単離しようと試みた。このような変異体は過去に1株のみ単離されているが（Tange et al., J. Cell Sci., 2002）、今回の変異体単離スクリーニングではそのような変異体は単離できず、微小管形成を誘発する鍵となる因子の同定には至らなかった。

大きな原因のひとつは、このように核内に微小管を形成してしまうという現象は、何かのタンパク質の機能が突然変異によって低下することでは起きるのが難しく、逆に何かのタンパク質が核に蓄積することで微小管形成のプラットフォームが核内に形成されるのではないかと考えた。ただしタンパク質を過剰発現することは生理的な条件とはほど遠い人工的な結果をもたらす可能性があると考え、我々はあくまでも生理的な本来のタンパク質発現量を維持したまま、酵母の核内にタンパク質を蓄積させる手法にこだわった。

そこで我々は従来の遺伝学的アプローチとは異なり、酵母細胞を試験管のように利用して、微小管が形成されるための必要十分条件をあぶり出す別のスクリーンに移行することにした。核内に任意の微小管結合タンパク質を強制局在させたときに微小管が形成誘導されれば、その因子は微小管を形成するために必要十分な因子であるといえる。本方法を「ビルドアップ遺伝学」と名付け、従来の遺伝子の突然変異体を単離する遺伝学スクリーニングとは方向性が異なっている点に特徴がある。

実際に我々は、特定の微小管結合タンパク質複合体を 2 種類発現させることで微小管形成を誘導できることが分かった。特にそれらを相互作用した状態で核内に蓄積させると、高頻

度に核内に微小管が形成誘導されることを見いだした。このことは、これらが微小管を形成するための最小限の因子であることを強く示唆するものであり、本研究によって微小管形成という複雑な生命システムにおける動作原理のエッセンスが明らかになりつつある。

また、我々は、研究の過程で、微小管構造が細胞分裂、特に染色体分配においてどれだけ重要な意義を持つのかという微小管の基本機能の重要性を再探求した。これまですべての真核細胞生物では、細胞分裂においては微小管が必要不可欠な役割を果たしており、微小管以外の細胞構造が染色体分配に積極的に関わるといった報告は得られていない。

しかし我々は、興味深いことに分裂酵母の減数第 2 分裂では、微小管に重篤な欠陥が生じていても、染色体分配が比較的正確に遂行できることを発見した。すなわち、中心体と中心体をつなぐ極間微小管が薬剤によって(あるいは特定のタンパク質の欠陥によって)破壊されていたとしても、中心体は分離して染色体分配がある程度の正確さで起きることが分かった。この条件で微小管を可視化すると、極間微小管は薬剤によって破壊されていたが、中心体と動原体を繋ぐ動原体微小管は残存していた。したがって、染色体分配をおこなう本体としての微小管は不可欠であるが、中心体を分離したり、核を分裂したりするための極間微小管は必ずしも必要ではないことが分かった。

それでは極間微小管のかわりに中心体の分離や核分裂を引き起こしているものはいったい何であろうか？ 減数第 2 分裂は配偶子形成とカップルしているため、我々は酵母の配偶子である胞子の形成過程が重要な役割を果たすと考え、前胞子膜と呼ばれる構造に注目した。微小管と前胞子膜の両方の形成を阻害すると、減数第 2 分裂でも中心体の分離は起きなくなった。このことは、極間微小管が阻害された状況下で中心体を分離しているのは前胞子膜であることを示している。このように我々は、分裂酵母の減数第 2 分裂においてスピンドル微小管をサポートする新しい構造として前胞子膜を同定した。これまで動原体微小管も極間微小管もいずれも必要不可欠であると考えられてきたスピンドルの常識を覆す新発見であり、今後の応用化が見込まれる。

3、今後の展開

上記の研究から、微小管の形成を誘発するのに必要十分といえる因子の決定に至った。それでは、細胞が間期から分裂期に移行する際に、どのような分子メカニズムで微小管が形態変化するのであろうか？ 上記実験から得られている「微小管形成のための必要十分因子」が“いつ、どこで”機能するのか、その実態を明らかにすれば、微小管が“いつ、どこで”形成されるのかが見えてくるであろう。本研究を継続することで、細胞分裂におけるもっとも基礎的かつ重要な謎を解く手がかりが得られると期待している。

4、自己評価

核・細胞質間輸送と微小管形成は酵母からヒトにいたるまで幅広く保存された生命システムであり、細胞周期依存的な微小管の形態変化に重要な役割を果たす。我々は本項目を酵母に着目して研究を進め、輸送にカップルして微小管を形成する重要因子の決定に至ったことは重要であると自己評価する。しかしながらこれは第一目標であり、本来の目標である細胞周期を通してどのように微小管が形態変化するのかという問いには未だ答えられていない。今後も研究を進め、さらに研究を高等生物に応用することを積極的に進めたい。

5, 研究総括の見解

細胞が分裂しない時期(間期)には、微小管は細胞質に網目状に形成されて、物質の運搬や細胞極性の確立の役割を担い、分裂期には、微小管は紡錘体(スピンドル)微小管へとその姿を激変させる。このことに注目し、酵母細胞を試験管とみなし、独自の仮説により、微小管を形成するための最小限の因子を見出し、着実に成果を挙げている。これらの詳細な機構の理解のもとに、微小管を介した生物学的現象の発展に繋がることを期待したい。

6, 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. M. Sato, N. Okada, Y. Kakui, M. Yamamoto, M. Yoshida and T. Toda. Nucleocytoplasmic transport of Alp7/TACC organizes spatiotemporal microtubule formation in fission yeast. *EMBO reports*, 10 (10):1161-1167, (2009)
2. M. Sato, M. Toya and T. Toda. Visualization of Fluorescence-Tagged Proteins in Fission Yeast: The Analysis of Mitotic Spindle Dynamics Using GFP-Tubulin Under the Native Promoter. *Methods in Molecular Biology – Mitosis* 545:185-203 (2009)
3. C.S. Fong, M. Sato and T. Toda. Fission yeast Pcp1 links polo kinase-mediated mitotic entry to c-tubulin-dependent spindle formation. *EMBO Journal* 29:120-130 (2010)
4. K. Arai, M. Sato, K. Tanaka and M. Yamamoto. Nuclear compartmentalization is abolished during fission yeast meiosis. *Current Biology* 20:1913-1918 (2010)
5. T. Akera, M. Sato and M. Yamamoto. Interpolar microtubules are dispensable in fission yeast meiosis II. *Nature Communications* (2012) in press

(2)特許出願

該当項目なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物等)

主な学会発表

Masamitsu Sato, T. Akera, J. Li, M. Yamamoto. How is interpolar microtubule regulated?
The 6th International Fission Yeast Meeting (2011) Boston, USA

Masamitsu Sato, Y. Kakui, T. Toda, M. Yamamoto
How are microtubules reorganised upon entry into mitosis and meiosis in fission yeast?
The 6th UK-Japan Cell Cycle Workshop (2011) Windermere, UK

佐藤政充, 角井康貢, 太田緑, 明楽隆志, 山本正幸

分裂酵母において減数分裂特異的にみられる微小管、動原体、スピンドル極体の挙動
日本細胞生物学会 (2010) 大阪

Masamitsu Sato, Y. Kakui, T. Toda, M. Yamamoto

Regulation of Microtubule Formation in Fission Yeast Mitosis and Meiosis

“Cell Proliferation Control” International Workshop Chromosome Segregation Machinery
(2010) Tokyo

Masamitsu Sato, Y. Kakui, T. Toda, M. Yamamoto

Regulation of Spindle Microtubules in Mitosis and Meiosis

The 5th International Fission Yeast Meeting (2009) Tokyo

受賞

Human Frontier Science Program (HFSP) Young Investigator Grant (2009) 受賞