

(様式第3号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 矢倉美代

題目: Analysis of the *zds1* and *moc1* genes involved in sexual development
in fission yeast

(分裂酵母の有性生殖に関与する*zds1*および*moc1*遺伝子の解析)

分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe*は栄養源が豊富に存在するときは細胞分裂により無性的に増殖するが、栄養源が枯渇すると細胞周期をG1で停止して、接合・孢子形成を行う有性生殖過程へと移行する。有性生殖過程への移行はcAMP経路、ストレスシグナル伝達経路、およびフェロモンシグナル伝達経路により制御されている。cAMP経路は栄養源、主にグルコースの状態を伝達している。cAMP経路を解析する目的で、これまでに栄養源の枯渇なしに有性生殖過程へ移行する*sam*変異株や、アデニル酸シクラーゼ過剰発現による孢子形成不能を抑圧する因子である*moc1-4*の解析が行われてきた。

Chapter IIにおいて、有性生殖、カルシウム耐性、細胞壁形成に関与する*zds1*について述べた。*zds1*遺伝子を出芽酵母の*ZDS1*および*ZDS2*遺伝子と相同性があり、それらは様々な機能を持つことが予想されている。二倍体*ras1*破壊株で*Zds1*を過剰発現すると、空ベクター発現時は0.3%だった孢子形成率が11.2%に上昇した。また、同様に*Zds1*のC末端領域を過剰発現すると孢子形成率が全長の*Zds1*過剰発現時に比べ高くなり、21.9%だった。一方、N末端領域を過剰発現した場合は空ベクターの場合と変わらなかった。また、*Ras1*の下流のMAPキナーゼカスケードの構成遺伝子の破壊株の孢子形成不能は、*Zds1*の過剰発現で回復できなかった。*zds1*遺伝子をさらに解析するため*zds1*破壊株を作製したところ、カルシウム感受性を示し、これは*Zds1*のC末端領域により抑制された。また、*zds1*破壊株は低温感受性、定常期における生存率の低下を示した。さらに、*zds1*破壊株は細胞形態が丸く、*Zymolyase*感受性を示し、細胞壁が野生株と比較して厚くなっていた。以上のことから、*zds1*は細胞壁の形成に必要とされることが示唆された。また、*Zds1*-GFP融合タンパクの局在を観察したところ、細胞質、隔壁および細胞表層部であった。また、隔壁の局在には*Zds1*のC末端領域が必要とされた。さらに、*Zds1*のC末端領域はマルチセプタムや異常な接合子の形成を誘導した。以上の結果より、*Zds1*のC末端領域は機能ドメインで、N末端領域は負の調節領域であると示唆された。このように、*Zds1*は分裂酵母の有性生殖、カルシウム耐性、細胞壁の形成、定常期での生存率、および細胞形態といった様々な現象に関与している。

Chapter IIIでは、分裂酵母の*moc1*遺伝子の有性生殖への関与について述べた。*moc1*遺伝子は*sds23*あるいは*psp1*としてすでに報告されているものと同一である。*psp1*は致死遺伝子

として報告されているが、*sds23*はそうではない。どちらが本当の表現型であるか確かめるため、まず*moc1*破壊株を作製して表現型を確認した。*moc1*破壊株は接合・胞子形成不能、ストレス感受性、高温および低温感受性、細胞伸長、そして定常期での生存率の低下という表現型を示した。また、*Moc1*は定常期および窒素源枯渇下でリン酸化することを確認した。さらに、*Moc1*の333番目のセリンをアラニンあるいはアスパラギン酸に置換した変異株を作製し、その表現型を観察した。その結果、S333D変異株では接合・胞子形成率が野生株よりも低く、S333A変異株では高くなり、*Moc1*のリン酸化は有性生殖過程への移行に影響を与えることが示唆された。しかし、ストレス感受性や細胞形態などの表現型には変異の影響はなかった。さらに、*Moc1*-GFPの局在を観察したところ、有糸分裂により増殖しているときは細胞質と核の両方に局在するが、接合子では核に集中し、胞子嚢では胞子に局在し、局在変化はcAMP経路により負に制御されていた。以上の観察結果より、核に局在した*Moc1*は有性生殖を誘導することが示唆された。このように、*moc1/sds23/psp1*は有糸分裂およびストレス応答のみならず、細胞の生存や有性生殖にも重要な役割を演ずることが示唆された。しかし*Moc1*のリン酸化は有性生殖にのみ影響を与えるようであった。

以上のように、分裂酵母の有性生殖に関与する*zds1*遺伝子と*moc1*遺伝子の解析を通し、有性生殖過程についての知見を深めた。