

## 第4章 酵母の非対称分裂

入江賢児

筑波大学大学院人間総合科学研究科

生命システム医学専攻分子生物腫瘍学分野教授

### 4.1 自己紹介

私の研究内容を書く前に、私がなぜ今の場所（筑波大学大学院人間総合科学研究科、組織の都合上長い名前ですけど、ようするに「筑波大学医学部」です）にいるかについて、私をここに導いてきた恩師の先生のことを交えて書きたいと思う。私は今、教授というポジションにいるが、これは私が優秀であったのではなく、これまでのすばらしい先生との出会いのおかげであることを書きたいのである。そんなに優秀でもないやつがいい先生に出会うことで、自分をレベルアップできるのだということを強調したいのである。

#### (1) 大学入学前 ～「バイオテクノロジー」という言葉に惹かれて～

私の高校時代 1980 年代の初めには、「バイオテクノロジー」という言葉が巷で流行っていた。現在、教員として大学および大学院で、「バイオテクノロジー総論」、「バイオテクノロジー特論」など、「バイオテクノロジー」と名のつく授業を担当しているが、遺伝子操作が簡便になっている現在では、「バイオテクノロジー」という言葉はもう古い言葉のような印象があるが、その当時は最先端な響きであった。

がん遺伝子 Ras が発見された当時であったからであろうか、がんなどの病気や食糧問題まで、なんでもかんでも「バイオテクノロジー」のパワーで解決できるような感じであった。なんとなく言葉につられて、「バイオテクノロジー」というのをやってみるのがおもしろそうと思うようになった。大学の進路決定は、今のようにインターネット検索やオープンキャンパスのような気の効いたものではなく、入試問題の載っている赤本の大学紹介などが数少ない情報源であった。高校2年生のとき、当時、教育実習に来ていた大学生による「大学進学説明会」があって、その質疑応答のコーナーで、私は「遺伝子工学をやりたい

のですが、どこの大学のどの学部に進めばいいですか？」と質問をした。そのとき答えてくれたのが、教育実習に来ていた阪大（大阪大学）の恵口豊先生（現大阪大学大学院医学研究科）で、「遺伝子工学なら、阪大工学部の醗酵工学科でやっている。」という答えを聞いて、私の進学先は決まった。私は成績優秀な学生ではなかったが、当時の阪大工学部の入試は2次試験に私の苦手な英語がなかったこともあって、無事に合格することができた。1983年に大学に入学してからは、遺伝子工学をやりたいという最初の気持ちはどこかに行っていて、特に一生懸命勉強したということもなかった。3年生になって学生実習が始まると実習は楽しかった。勉強よりも実験が好きというのは今も変わっていない。

## （2）最初に実験を教えてくれた荒木弘之先生 ～趣味：実験～

1986年、私は学部4年生になって、卒業研究の研究室として当時の第4講座（大嶋泰治教授の研究室）を選んだ。醗酵工学科の他の研究室が主に微生物（原核生物）を研究材料として使っていたのに対し、唯一「真核生物である酵母」を使っていたという理由と、学部卒・修士卒で就職する人がほとんどであった当時の工学部の中で、博士課程への進学者が多かったという「大嶋研のアカデミックさ」に惹かれたからである。このとき酵母の研究を始めたのが22歳で、今も酵母を材料として研究をしているから、酵母とのつきあいはもう20年以上になる。

学部4年生の春の時点では、大学院修士課程への進学は「よりよい企業に就職できる」という非常に打算的な理由で決めていたが、肝心の研究テーマについては、いろんな研究室を訪問して話を聞いたことは記憶しているが、「自分がなにをやりたいか？」という点についてはあまりよくわかっていなかったと思う。とりあえずこのとき選んだ研究テーマは「酵母のプラスミド分配の機構」であり（実はこのテーマの選択は今を方向付ける重要なポイントであったのだが）、大嶋研究室で私に直接実験を教えてくれたのが、当時助手の荒木弘之先生（現国立遺伝学研究所教授）であった。この荒木さんが「将来は企業に就職す

る」と心に決めていた私を研究者の世界に引きずりこんだ張本人である。荒木さんは阪大理学部出身（分子生物学分野で高名な小川英行先生の研究室）で、いかにも「趣味：実験」という人であったが、そのときやっていた酵母のプラスミド分配異常の変異株の単離とその解析が私の好みにあっていたようで、実験はとても楽しかった。

このとき自分で変異株を分離して、自分で遺伝子を命名できたこと（SMP3 遺伝子:Stable Maintenance of Plasmid）が特に気持ちの良かったことで、現在では酵母のすべての遺伝子が決まり、Saccharomyces genome database などのウェブサイトに公開されているが、学生時代に自分が命名した遺伝子名が酵母の全遺伝子の中にあるというのは、自己満足ではあるがいいものである。

助手の荒木さんに実験を教えてもらったのは、人数の多い研究室にありがちなシニアな大学院生に学部生が指導してもらおうというスタイルよりもよかったと思う。荒木さんは大学院生と比べ物にならないくらい、知識も経験も豊富だったからだ。あまり細かいことにこだわらず、学生である私に実験を任せてくれたことも私には合っていた。当時の大嶋研究室は土曜日がまだ休日でなかったということもあり、論文セミナーは土曜日の朝からあり、博士課程の大学院生を中心に休日にも実験している人が多い研究室だった。

当時の大嶋研究室には、「フォスファターゼ遺伝子発現制御」と「酵母の性決定」という二大看板テーマがあった（注：大嶋泰治先生の酵母の性決定の研究はとくに有名で、「酵母のすべて」大隅良典・下田親編シュプリンガー／ジャパンにも話が取り上げられている。また、大嶋先生はアメリカ遺伝学会の Thomas Hunt Morgan Medal の日本人初の受賞者である。）。私の研究テーマはそれらとは違っていたが、そんなことは全く気にならなかった。おそらく、もっと真面目に研究テーマのことを勉強していたら、大嶋研の二大看板テーマのどちらかを選んでいただろうと思うが、テーマよりも実験を教えてくれたのが荒木さんであることが大きかったし、よかったと思う。荒木さんは自由に実験させてくれたし、自分一人でやっている研究テーマであったので、「自分の実験を自分でやっている」という

意識が強くて楽しかった。

実験がおもしろくなってきたので、「博士課程に行ってから就職してもいいや。」と思うようになって（当時はバブルの頃だったから就職に対する危機感がなかった）、博士課程に進学することにした。ただ、博士課程に行くことを決めた修士2年生のときに、なんと指導教員である荒木さんが留学したため、修士2年生からは自分のペースは自分で決めるという、自分勝手なペースで実験することとなった。後日、荒木さんの話では、「僕が留学するのはわかっていたから、4年と修士1年のときになるべくひんぱんに議論して一人で実験ができるように鍛えておいた。」と言っていた。荒木さんは、大学院時代からDNA複製の研究に従事し、いまでも（ひつこく）酵母を材料にDNA複製の研究をし「Nature」誌に論文を発表するなどとても活躍している。先日、荒木さんを筑波大学に招いて、大学院生向けのセミナーをしてもらったが、その研究スタイルは普遍であった。一貫した研究テーマを、あいかわらずの地道な方法で展開し、超一流の研究をなされていた。研究者としての第一歩を荒木さんの研究指導のもとに踏み出せたことは、本当にラッキーであったと思う。

### （3）大嶋研出身者の大スター：松本邦弘先生

大学院時代は、酵母変異株の解析をかなりのマイペースで、かつ楽しく続けていた私であったが、「Cell」、「Nature」などの超一流科学雑誌（注：現在でも「Cell」、「Nature」、「Science」はCNSと呼ばれ、研究者が研究を発表したい雑誌であり、世間の注目度と評価も高い）に出ている論文を読むにつれ、だんだん自分でもこんなすごい仕事をやってみたいなあ、と思うようになっていた。当時は、MPFの実体がCdc2/サイクリンの複合体である（注：MPF, Maturation Promoting Factor は細胞周期進行の制御の中心的役割を果たし、当時この分子実体がサイクリンとサイクリン依存性プロテインキナーゼ Cdc2 であることが証明された。この発見は2001年にノーベル医学生理学賞を受賞した）ことが示された時期であり、細胞周期研究はまさに花形研究であった。

1990年、博士課程2年生のたぶん6月頃に、そのときアメリカのDNAX研究所から名古屋大学に教授として帰国した松本邦弘先生が大嶋研に遊びに来た。松本さんは大嶋研究室の大先輩で、当時アメリカでRasや三量体Gタンパク質の仕事で「Cell」などに論文を出していた、大嶋研究室出身のスーパースターだったので（注：松本さんとアメリカのウィーグラー博士による、酵母のRasの標的タンパク質の同定の話はとくに有名で、「がん遺伝子に挑む（下）」（東京化学同人）にも話が出てくる）、直接話すのは緊張したが、そのとき焼肉をごちそうになったことはなぜかよく憶えている。それから半月位して、突然大嶋教授から「名古屋の松本先生のところの助手に」という話をいただいた。そのときはまだ「大学院修了後は企業に就職」という気持ちでいたが、研究を続けてきているいろんな論文も読んでいるうちに、シグナル伝達とか細胞周期などの華やかな分野の研究をやってみたい、と思うようになっていたので、松本研究室を経由して企業に行ってもいいか、という、かなりいいかげんな気持ちで、松本研究室の助手になった。今から思うと、まだ博士課程途中の、学位も取っていない私を助手にしてくれたというのはすごくありがたい話であるが、当時は世間のこともあまり知らなかったもので、とんでもなく失礼なことを思っていた。

松本研究室はスタートしたばかりで小さな研究室であったが、アメリカで世界のトップの研究をしていた松本さんはやっぱりスゴくて、「Cell」とかの論文でしか見たことのないようなG1サイクリン（注：細胞周期のG1期で働くサイクリン。このとき以前に発見されていた細胞周期のG2/M期で働くB型サイクリンとは異なるタイプのサイクリンで、酵母で初めて見つかった）の遺伝子をもっていたりして、それを自分の実験としてできるということはとても刺激的で楽しかった。しかも、松本研究室に移ってすぐに私が筆頭著者の論文が「Cell」に出たので、私の実力は全然変わっていないにも関わらず、スゴく活躍しているような錯覚に陥ることになった。しかし実験とは不思議なもので、スタートがよかった松本研究室での仕事はそのあと苦戦の連続であった。なんと、そのときの苦境を救ってくれたのが、大嶋研究室で私が一人でやっていたときに取っていた「一つの遺伝子」であ

る。大嶋研究室の私の仕事は、後輩の大学院生の高瀬雅則君（現カルピスコポーレーション：私が直接実験を指導した最初の弟子）が引き続きやってくれていて、私が取ってそのあと高瀬くんが解析を続けていた「遺伝子の一つ」が MAP キナーゼキナーゼであることを突き止めてくれたのである。（注：MAP キナーゼキナーゼは細胞内シグナル伝達系で働くプロテインキナーゼ（タンパク質リン酸化酵素）であり、MAP キナーゼキナーゼキナーゼ～MAP キナーゼキナーゼ～MAP キナーゼというリン酸化リレーでシグナルを伝達する。）

当時は MAP キナーゼカスケード（注：前述のキナーゼリン酸化リレーの経路）というのが見つかりかけているときで、アメリカのデイビット・レビン博士（ジョンズホプキンス大学）と組んで、酵母の MAP キナーゼカスケードの一つを明らかにした。また、当時東京大学にいた西田栄介先生（現京都大学大学院教授）、後藤由季子先生（現東京大学分子細胞生物学研究所教授）と共同で、動物細胞の MAP キナーゼと酵母の MAP キナーゼが機能的に交換可能であることも示した。ということで、なにがうまくいくかはわからないものである。全然関係のないテーマでやっていた大学院生のときに単離した遺伝子から、新しい研究テーマに進展できたのだから。MAP キナーゼカスケードの仕事は、松本さんの能力の高さと共同研究のうまさにも助けられて、いろんな成果（注：1994年に SCIENCE に発表した Raf の活性化に働く 14-3-3 タンパク質の同定、1995年に SCIENCE に発表した新規の MAP キナーゼキナーゼキナーゼ TAK1 の発見など）を出すことができて、ハッピーに過ごすことができた。

松本さんは、あっさりとした性格だが、頭の回転は抜群に早くて、松本さんと議論したら、自分の実験で足りないところをあっという間に指摘されてしまう。今でも、研究で松本さんと話すのは楽しいし、いつでもいい指摘をしてくれる。

#### （４）留学先のボス：アイラ・ハースコビッツ

1997年から、私はアメリカ・カリフォルニア大学サンフランシスコ校のアイラ・ハース

コビッツ博士のもとに留学した。ハースコビッツ研究室留学時から、後半に書く「酵母における非対称分裂の制御機構」の研究を始めたわけだ。私が留学する前年の1996年に、酵母の非対称分裂を制御する因子として Ash1（注釈：Ash1 は酵母の接合型変換を触媒する HO エンドヌクレアーゼをコードする HO 遺伝子発現のリプレッサー（遺伝子発現を抑える因子）であり、酵母の細胞運命決定因子）が同定され、ハースコビッツ研究室とナスミス研究室からの2つの論文が連報で「Cell」誌に掲載されていた。ナスミス研究室からはさらに別の論文として、Ash1 の局在に関与する因子として *She1-She5* という遺伝子（注：このうち *She1* がタイプ V ミオシンをコードする）が同定されていた。

その翌年の1997年に、Ash1 タンパク質の非対称な局在がそのメッセンジャーRNA (mRNA) の局在によって決定されるという仕事が、ハースコビッツ研究室とベール研究室（注：キネシンの研究でも有名なロン・ベール教授）との共同研究で「Nature」誌に、ナスミス研究室とシンガー研究室との共同研究で「Science」誌に報告された。私は、ハースコビッツ研究室では、*ASH1* mRNA の局在に関与する *She1-She5* とは異なる因子を別のアプローチで探していたが、最初の一年半はなかなかうまくいかなくて、ほぼノーデータだった。ボスのアイラは仕事をせかせたりするタイプではなく、当時のハースコビッツ研究室では大学院生もポスドクも非常にゆっくりとしたペースで実験をしていたと思う。でも私自身は内心ちょっと焦っていた。

その頃は、アイラとロンさん（ロン・ベール教授）、ピート（ピーター・滝沢：ベール研究室のときのポスドク、現エール大学）の4人で、定期的に *ASH1* ミーティングをやっていた（今から思うと豪華メンバーだった）、ミーティングのときアイラが「ゲノムプロジェクトも終わった（注：出芽酵母の全ゲノム配列は1996年に決定されていた）ので、酵母のすべてのRNA結合タンパク質をつぶして（注：遺伝子破壊株すなわち遺伝子をノックアウトすること）、*ASH1* mRNA 局在を調べてはどうか？」ということを出した。酵母の遺伝子破壊（ノックアウト）は比較的簡単だとは言っても、一つずつ遺伝子をクローニン

グして破壊株を作製していくというのは非常に手間のかかる作業であり、最初それを聞いたとき、私はちょっと無理ではないかなと思った。そのときロンさんはその話非常に興味をもっていただろうだった。幸運なことに、その頃、大嶋研究室の後輩である向由起夫君（現長浜バイオ大学）にオリゴヌクレオチドと異種酵母のマーカーを使った、非常に効率のよい簡単な遺伝子破壊の作製法を教えてもらい、Puf ファミリーの RNA 結合タンパク質と KH ドメインをもつ RNA 結合タンパク質に限って全遺伝子破壊株を作製した。その結果、運がいいことに KH ドメインをもつ RNA 結合タンパク質 Khd1 が *ASH1* mRNA と共局在し、*ASH1* mRNA の翻訳制御に関与することを見出すことができた。また、Puf ファミリーの Puf5/Mpt5 が *ASH1* mRNA ではないが、Ash1 のターゲットである *HO* 遺伝子の mRNA の転写後の制御（注：この場合の転写後制御は mRNA の安定性制御と翻訳制御）に関わることを明らかにすることができた。これらの仕事のことは後半に詳しく述べる。

このときの仕事は、実際に論文になるのは大分あとになったが、研究が進展せずに困っていたときに、①ボスの有益な助言、②優秀な共同研究者やラボのメンバー（ハースコビッツ研究室とベール研究室）との有益な議論、③ミーティングでの出会い、④友人との情報交換、⑤学生の頑張り（名古屋大学の大学院生の多々内智文君と技術員の多大な貢献）、⑥周囲の理解（名古屋大学に戻ってから仕事を続けさせてくれた松本先生）など、多くの人々に助けられて仕事できたのは、非常にラッキーだったし、よい経験になった。

本当にいいボスというのは、実験がうまく進行しているときには何も言わずに仕事をまかせてくれて、実験がうまくいかなくて困っているときに助けてくれるという話を聞いたことがあるが、アイラはその点はさすがだった。じつはハースコビッツ研究室の中では「ボスのアイラはあまりにも学生をヘルプしない。」ということで文句をいう大学院生もいたが、アイラの助言は言われたそのときは「わけわからんことを言っているなあ」と思うようなことでも、後々「それが当たっている」ということはよくあったと思う。そのアイラが 2003 年のがんで亡くなったことは本当に残念なことで、私の独立を報告できなくなったことも本当



に残念に思っている。アイラは自分の出身高校の学生にサイエンスに興味を持ってもらうためのプログラムを支援するなど、サイエンスの裾野を広げる活動にも熱心な偉大な研究者であった。

#### (5) ザ・キングメーカー：高井義美先生

私は、ハースコビッツ研究室から帰国後、自分の研究の幅を広げるため、酵母以外の動物細胞の系も勉強したいと思い、2000年に大阪大学医学部の高井義美教授の研究室に移った。高井先生と松本先生は仲が良かったということもあって、以前から高井先生と高井研究室のことは知っていたが、まさか自分が高井研の一員になるとは、それより前には思ってもいないことであった。また、35歳で、助手から同じ助手での移籍ということで、それでいいのか、という声もあった。高井先生は神戸大学の西塚泰美先生のもとで、プロテインキナーゼCの発見（注：この発見で西塚先生はラスカー賞を受賞するなど、歴史的な研究成果である）をした先生で、高井研究室はハードワークと論文の出る数のスゴさで有名な研究室であった（今も、である）。高井研究室では、上皮細胞の細胞間接着の形成機構を研究し、その過程で培養細胞やノックアウトマウスの解析などの手法も勉強した。そのことも充実していたが、さらによかったのは、高井先生の研究室運営のスゴさを勉強できたことだと思っている。

高井先生のスゴいところは、学生に「無理な注文を、わかってしてくれること」だ。簡単に「そんなことは無理です。」とかいう答えは大嫌いだ。無理な注文を、考えて、考えて、考えて、新しい発見をする。そういう点はものスゴくて、さすがにノーベル賞候補にもなったプロテインキナーゼCの発見者であるというのがよくわかる。説教が長いのがちょっと欠点で、高井研究室在職中は「大変だな」と思ったこともあったが、その高井先生の説教が今の自分の財産になっているというのは本当である。高井先生の説教集（高井語録）は、きっとよい指南書になると思うが、高井研究室出身教授の兄弟子たちがいっぱいいる

ので、私が書くのは遠慮しておく。

## (6) 今の研究室

2005年より、筑波大学で教授になり、自分の研究室をもつことになった。これはこれまでの恩師の先生方とすばらしい共同研究者のおかげである。でもこれがスタートで、いまは苦勞の連続である。私が今思っていることは、世界に向けて画期的な研究成果を出したいということもあるが、もうひとつは自分が受け継いできた先生方のいいところを伝えていけるように弟子（学生）を育てていきたいということだ。大先生と言われる先生は、自身がいい研究をするだけでなく、いい仕事をする弟子も育てるという話はよく聞くし、いい研究室からは多くのいい研究者が輩出されている。私は残念ながら、恩師の先生方のようなスゴい研究者ではないが、でも私の研究スタイルは私の師匠にあたる先生方から受け継いできたものだ。日々の研究の進め方、一見簡単な実験だけど注意深くやっているところ、研究発表のスタイルなど、なんかこう文章にはうまくまとめられないけれど、いろんな伝統が今の私を作っていると思う。私は教授の立場になってもまだ自分で実験をしている。やっぱり自分で実験をするのは楽しい。楽しいだけでなく、なんかこう学生がやるのとは違うな、と感じるところもある。受け継いできた自分のスタイルを伝えていけるように弟子を育てていきたいと思っている。

## 4.2 ここから研究の話

iPS細胞が話題になっている。皮膚の細胞に4つの遺伝子を導入すると、幹細胞の性質をもつ。画期的な発見で、臨床分野への応用が大きく期待されており、開発者のみならず、海外でも精力的に研究されている。そもそもどうしてこのようなことが可能なのであろうか？幹細胞になるというのは、どのように決まっているのか？細胞の運命は、細胞の運命決定因子によって決まっている。これを細胞運命決定因子（英語では cell-fate

determinant) と言う。iPS 細胞の開発者である山中伸弥先生（京都大学大学院）のすごいのは、幹細胞の運命決定因子 4 つを同定したことである。

個体の発生を考えてみたとき、もともと 1 つの受精卵から細胞分裂によってさまざまな細胞が生まれてくる。途中で、決まった細胞には決まった細胞運命決定因子が発現することで、それぞれの細胞の運命が決まってくる。では、どの細胞にどの細胞運命決定因子が存在するか、はどうやって決まるのか？これを解明するカギが細胞の「非対称分裂」(図 1) である。

前述のように、私は大学生の時代から、パンやお酒を作る酵母（出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、以下酵母）を材料に研究を行ってきた。私の酵母の研究が iPS 細胞に関係があるとはとても言えないけれど、「細胞の運命を決める機構を研究する」、「酵母の研究はヒトの役に立つ」と思って研究を行っている。ここでは酵母の非対称分裂の研究を紹介する。

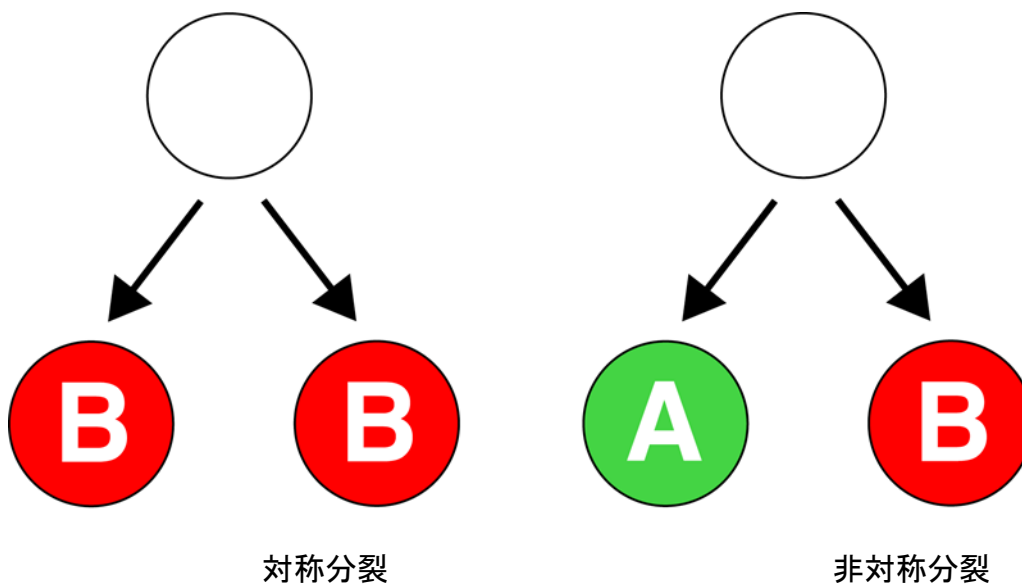


図 1. 非対称分裂

(左) 対称分裂では細胞分裂により同じ細胞を 2 つ生じる。

(右) 非対称分裂では細胞分裂により異なる細胞を生じる。

多細胞生物を構成する多種多様な細胞は、1 個の細胞である受精卵から、細胞分裂が繰り返されて生まれてくる。

そこでは、2 つの違った細胞を生じる非対称分裂が細胞の多様性を生み出すカギとなる。

## (1) 非対称分裂とは？

細胞分裂によって2つの異なる細胞を生じる「非対称分裂」は、発生過程において細胞の多様性を生み出す基本的なしくみである(図1)。非対称分裂は、「自律的な非対称分裂」と、「非自律的な非対称分裂」に大別される。細胞が自律的な非対称分裂を行うには、その細胞に細胞極性があることが前提となる。すなわち、元の細胞の細胞極性に従い、分化の決定因子が非対称に分配されることにより、自律的な非対称分裂は起こる(図2)。非自律的な非対称分裂の場合には、分裂した2つの細胞に入る細胞外のシグナルがそれぞれ異なれば、非自律的に異なる2つの細胞を生じる。

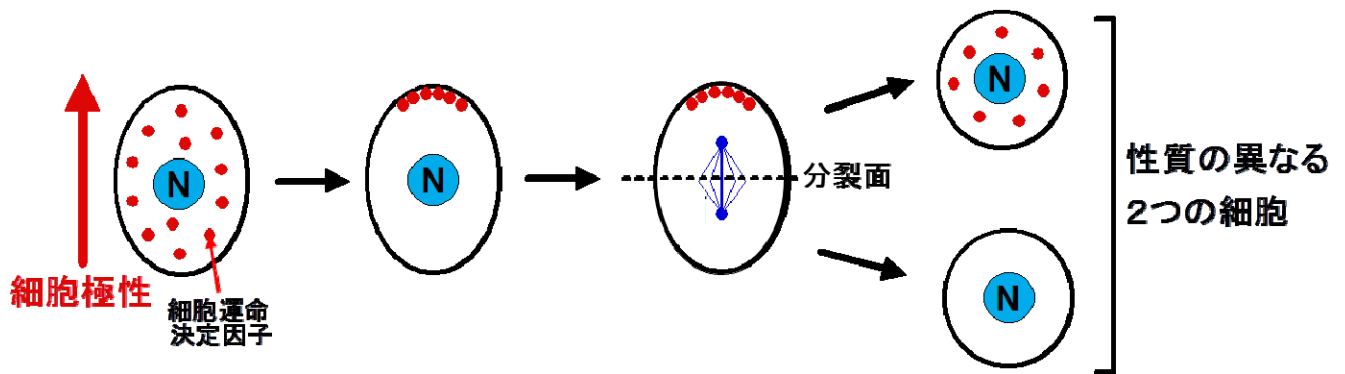


図2. 自律的な非対称分裂

細胞極性に依存した細胞運命決定因子の非対称な分配により性質の異なる2つの細胞が生じる。

## (2) 酵母の非対称分裂

単細胞真核生物である出芽酵母にも、このような「非対称分裂」が存在し、非対称分裂の機構を解析する上でよいモデルになると考えられ、研究が進められてきた。酵母は細胞分裂により、「母細胞」と「娘細胞」に分離する(図3)。ホモタリック株と呼ばれる酵母では、接合型がa型から $\alpha$ 型、または $\alpha$ 型からa型に変換する「接合型変換」と呼ばれる一種の性転換が起きる。酵母の接合型は、第3染色体上のMAT遺伝子座によって決定され

るが、接合型変換は HO エンドヌクレアーゼ（注：DNA を切断する酵素で、DNA 切断から酵母の接合型変換が開始される）が触媒する *MAT* 遺伝子座の組み換えによって起こる。この接合型変換は、母細胞で起きるが、娘細胞では起きない。これは接合型変換を触媒する HO エンドヌクレアーゼをコードする *HO* 遺伝子が、母細胞でのみ発現し、娘細胞では発現しないからである（図 3）。すなわち、母細胞と娘細胞の非対称性は *HO* 遺伝子発現の違いとしてとらえることができる。多細胞生物の運命決定も遺伝子発現の違いによって決定されるので、遺伝子発現の非対称性がどうやって決まるのかという問題を解明することが重要となる。

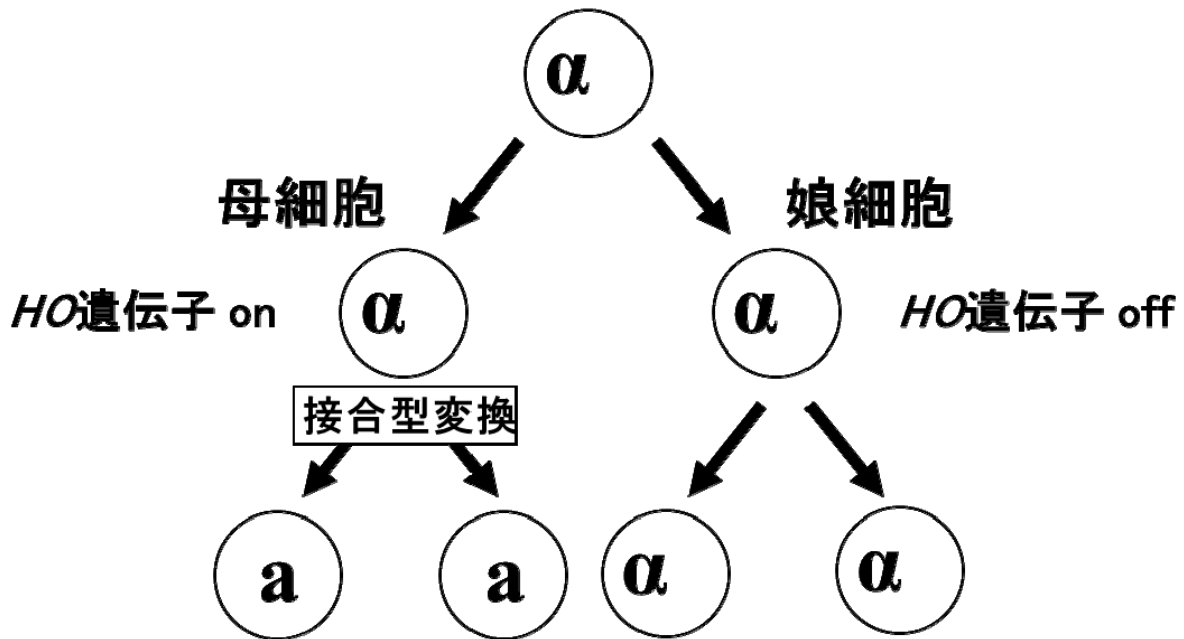


図 3. 酵母の非対称分裂

酵母は細胞分裂により、「母細胞」と「娘細胞」に分離する。母細胞では、接合型変換を触媒する HO エンドヌクレアーゼをコードする *HO* 遺伝子が発現するため、接合型が変換する（図では  $\alpha$  型から  $a$  型）。娘細胞では、*HO* 遺伝子が発現しないため、接合型は変換しない。すなわち母細胞と娘細胞の非対称性は、*HO* 遺伝子発現の違いとしてとらえることができる。

### (3) 遺伝子発現の非対称性を決定する因子

*HO* 遺伝子発現の母細胞と娘細胞の非対称性を決定する因子 Ash1 は、ハースコビッツとナスミスの2つのグループにより単離された。Ash1 は *HO* 遺伝子発現のリプレッサー（注：遺伝子発現を抑える因子）であり、細胞周期のM期でのみ発現し、M期後期からG1前期の娘細胞の核に局在する（図4上段）。すなわち、野生型株では Ash1 リプレッサーが娘細胞特異的に局在する結果、母細胞でのみ *HO* 遺伝子は発現する（図4下段）。

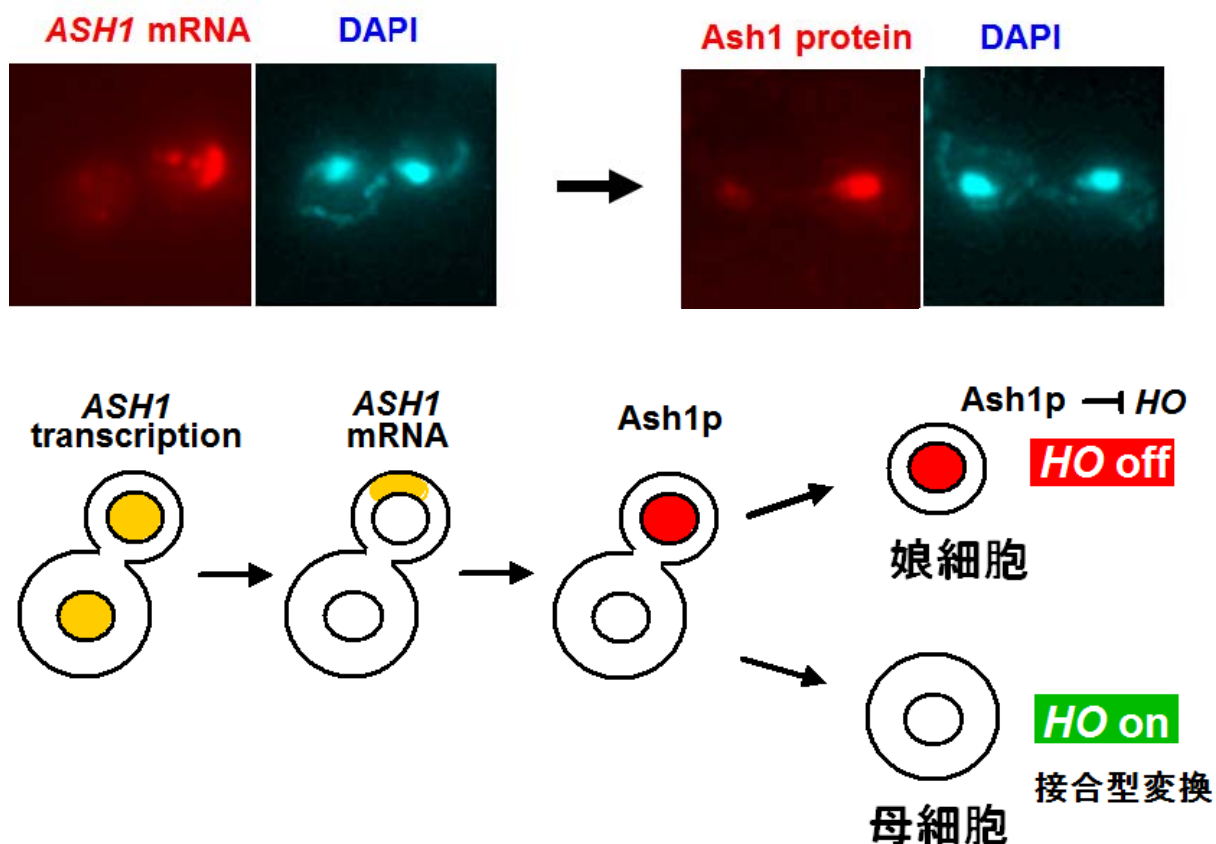


図4. 酵母の非対称分裂は Ash1 リプレッサーの局在により決定される。

（上段）細胞分裂時における *ASH1* mRNA と Ash1 タンパク質の非対称な局在

（下段）非対称分裂の制御のモデル。*HO* 遺伝子発現を制御するリプレッサー Ash1 が娘細胞特異的に局在する結果、母細胞でのみ *HO* 遺伝子は発現する。Ash1 タンパク質の娘細胞特異的局在は、*ASH1* mRNA の局在により決定される。

*ASH1* 変異株では Ash1 リプレッサーが存在しないので、母娘両方の細胞で *HO* 遺伝子が発現する。逆に *ASH1* 遺伝子の多量発現株や *she* 変異株(後述)では、Ash1 リプレッサーが母細胞娘細胞両方の核に局在し、その結果 *HO* 遺伝子は母娘両細胞で発現しない。以上の結果から、Ash1 が母細胞特異的な *HO* 遺伝子の発現と接合型変換を決定する因子であることが明らかとなった。Ash1 は娘細胞において、*HO* プロモーターに直接結合することにより、*HO* の他の転写因子による作用を阻害して(注: Ash1 は転写因子 Swi5 による Swi/Snf 複合体の *HO* プロモーターへのリクルートを阻害する)、娘細胞での *HO* の発現を抑制する。

#### (4) Ash1 の非対称な局在を決定する機構

*HO* 遺伝子発現の母細胞と娘細胞の非対称性を決定する因子 Ash1 が発見されたので、これで終わり、というわけではない。次の問題が生じてくる。すなわち、Ash1 タンパク質がどうやって非対称に局在するか? である。

Ash1 タンパク質の娘細胞への局在は、*ASH1* mRNA が細胞分裂時に娘細胞の先端へ局在し、局在した mRNA がそこで局所的に翻訳されることによって決まる(図4)。mRNA 局在と局所的翻訳の機構は、多細胞生物においても見られ、細胞の運命決定に重要な役割を果たしている例が多く見られることから、酵母の *ASH1* の系は mRNA 局在と局所的翻訳の機構の研究においてもよいモデル系となった。

#### (5) mRNA 局在と局所的翻訳の機構

mRNA 局在と局所的翻訳の分子機構は、ショウジョウバエの卵形成、線維芽細胞におけるアクチン mRNA の局在とその翻訳、神経系の細胞における mRNA 局在と翻訳制御など、さまざまなモデル生物において精力的に研究されている。*ASH1* mRNA がかわる酵母の系(図5)は、① mRNA 局在に必要な mRNA 上のシス配列(局在の宛先を示すのでジップコード(郵便番号)と呼ばれる)の存在、② mRNA 輸送におけるモータータンパク質の関与、③ 巨大

な mRNA-タンパク質複合体（ローカソームともいわれている）の形成、④ mRNA 局在における極性化された細胞骨格の関与、⑤ 輸送中の mRNA の翻訳抑制機構の存在、⑥ 輸送された mRNA を芽の先端に留めておくアンカーリング機構の存在、⑦ mRNA の局所的な翻訳機構など、高等生物と共通の機構を数多く含んでいる（図 5）。次に、①～⑦の mRNA 局在機構を詳しく紹介する。

#### ① mRNA 局在に必要な mRNA 上のシス配列

他の生物の mRNA の局在、安定性、翻訳制御の系では、mRNA の 3' 非翻訳領域（注：mRNA 上のタンパク質コード部分より後ろの翻訳されない領域）内に、制御に必要なシス配列ジップコードが存在する例が多いが、*ASH1* mRNA の場合には 3' 非翻訳内のジップコード（E3 領域）に加え、コーディング領域内にも 3 箇所のジップコード（E1、E2A、E2B 領域）が存在する（図 5）。レポーター遺伝子と融合させた場合には、それぞれのジップコードが単独で mRNA を芽側（芽の先端ではない）に局在させることができる。しかし、4 つのジップコードがあることで *ASH1* mRNA は、より効率よく芽の先端に局在している。この 4 つのジップコードのうち 3 つがコーディング領域内にあることは、後述する *ASH1* mRNA の翻訳制御にも密接に関連する。4 つのジップコード E1、E2A、E2B、E3 領域は類似の 2 次構造を形成し、次項で述べる RNA 結合タンパク質 She2 との結合に必要である。



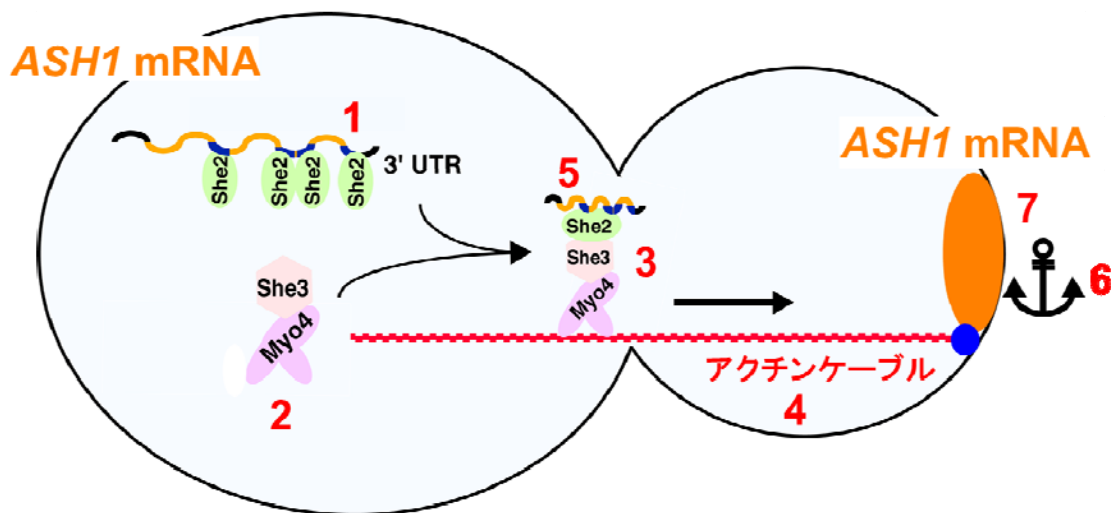


図5. *ASH1* mRNA の局在機構

① mRNA 局在に必要な mRNA 上のシス配列(局在の宛先を示すのでジップコードと呼ばれる)に RNA 結合タンパク質 She2 が結合する。② ③ *ASH1* mRNA-She2 は、アダプタータンパク質 She3 を介して、Myo4 モータータンパク質と巨大な mRNA-タンパク質複合体を形成する。④ mRNA-タンパク質複合体はアクチンケーブル上を輸送される。⑤ 輸送中の mRNA の翻訳は抑制されている。⑥輸送された mRNA-タンパク質複合体は芽の先端に留めおかれる。⑦ 局在化された mRNA は芽の先端で局所的に翻訳される。

## ②&③ mRNA 局在における巨大な mRNA-タンパク質複合体

*ASH1* mRNA の娘細胞への局在に関与するトランス因子として、She1-She5 が同定された。*she* 変異株では、*ASH1* mRNA の娘細胞への局在は異常になり、Ash1 タンパク質が母細胞、娘細胞のどちらにも局在する結果、母細胞でも *HO* 遺伝子が発現しない。She1-She5 のうち、She2 が *ASH1* mRNA に直接結合する RNA 結合タンパク質である。She2 は二量体を形成し、*ASH1* mRNA のジップコードに結合する (図5)。She2 は mRNA との結合依存的に、核から細胞質に移行すると考えられている。核から出た *ASH1* mRNA-She2 複合体は、アダプタータンパク質 She3 を介して、She1/Myo4 タイプ V ミオシン (注: このミオシンは筋肉のミオシン (タイプ II ミオシン) とは種類が異なり、アクチンケーブル上を走るモーターである) と結合する (図5)。この *ASH1* mRNA-She2-She3-Myo4 の複合体は、ローカソームと呼ばれ、酵母の mRNA 局在の中心的役割を果たす。

#### ④ mRNA 局在における極性化された細胞骨格の関与

*ASH1* mRNA-She2-She3-Myo4 複合体は、アクチンケーブル上を芽の先端へと輸送される(図5)。アクチンの変異株、トロポミオシンやプロフィリンの変異株、アクチン重合阻害剤存在下では、*ASH1* mRNA の局在は異常になる。

#### ⑥ 輸送された mRNA を芽の先端に留めておくアンカーリング機構

*ASH1* mRNA-She2-She3-Myo4 複合体によって輸送された *ASH1* mRNA は、出芽した芽の全体ではなく、芽の先端部分に濃縮して観察されることから、*ASH1* mRNA を芽の先端部分に留めるアンカーリング機構があると考えられている(図5)。前述したように、*ASH1* mRNA のそれぞれのジップコードが単独で mRNA を芽側(芽の先端ではない)に局在させることができるが、アンカーリングには4つのジップコードが必要である。また、*ASH1* mRNA の翻訳がアンカーリングに必要であると考えられている。

#### ⑤&⑦ 輸送中の mRNA の翻訳制御

*ASH1* mRNA は娘細胞の先端に輸送された後、局所的に翻訳され娘細胞の核に局在すると考えられている(図4、図5)。この輸送中の mRNA の翻訳制御に関わる因子として、RNA 結合タンパク質 Puf6 と Khd1 が同定されている。Puf6 は、Puf (Pumilio and FBF) ファミリーに属する RNA 結合タンパク質で、*ASH1* mRNA の 3' 非翻訳領域にあるジップコード E3 内の UUGU 配列依存的に *ASH1* mRNA に結合し、翻訳を抑制する。Khd1 は、KH ドメインを3つもつ RNA 結合タンパク質で、輸送中の *ASH1* mRNA に結合しその翻訳を抑制する。芽の先端に局在化すると、Khd1 は Yck1 というプロテインキナーゼでリン酸化され、*ASH1* mRNA から外れ、翻訳抑制が解除される。

## (6) 非対称分裂を制御する第二の機構の発見

*HO* 遺伝子の母細胞特異的発現には Ash1 による転写開始段階での制御に加え、Puf ファミリーの RNA 結合タンパク質 Puf5/Mpt5 による *HO* mRNA の転写後段階での制御も必要である (図 6)。

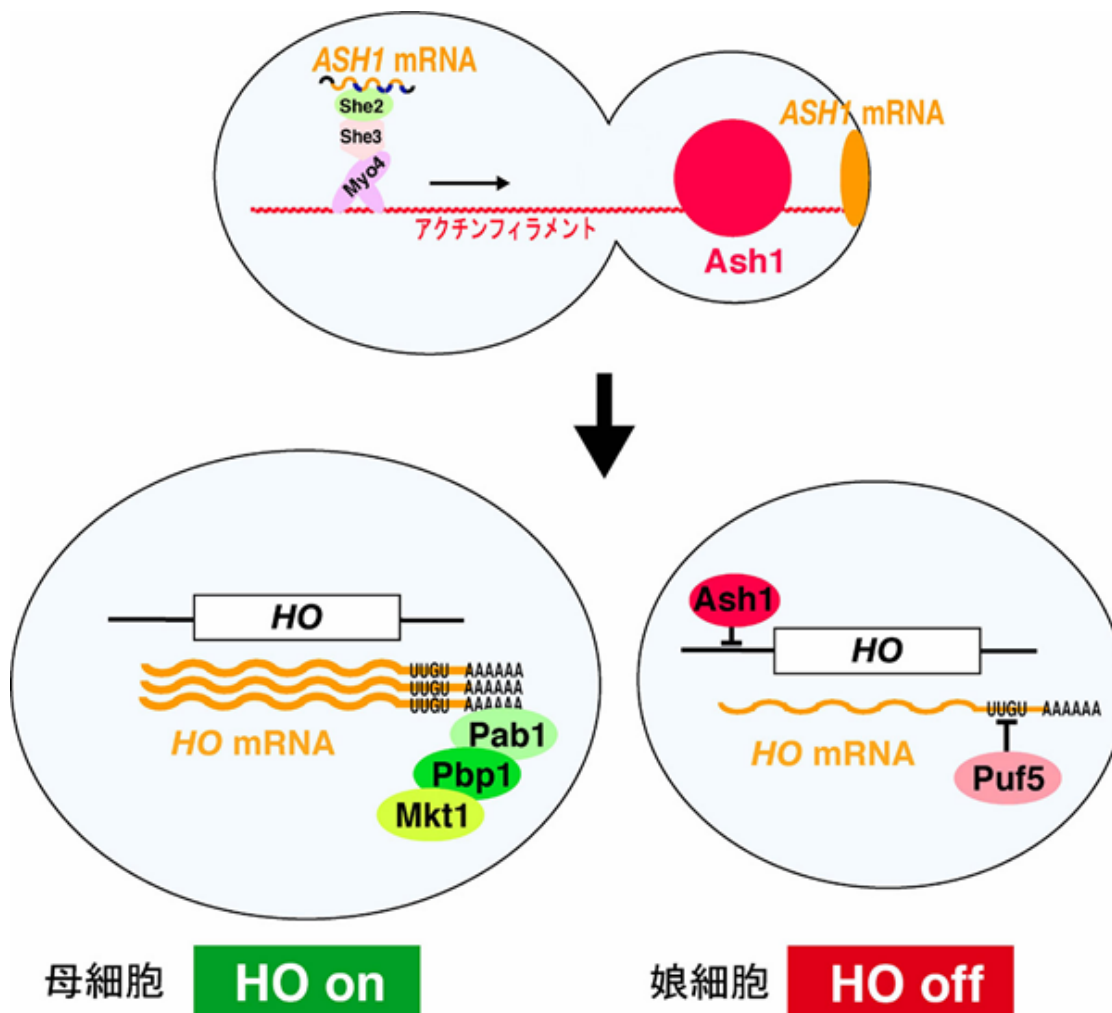


図 6. 酵母の非対称分裂を制御する第 2 の機構

上段 : Ash1 タンパク質は mRNA 局在を介して娘細胞の核に局在する。

下段 : *HO* 遺伝子の母細胞特異的発現は、リプレッサー Ash1 による転写制御、RNA 結合タンパク質 Puf5 による *HO* mRNA の RNA 安定性および翻訳抑制制御の 2 つの機構によって制御される。

Puf ファミリー RNA 結合タンパク質は、標的 mRNA の 3' 非翻訳領域に結合し、mRNA の安定性を低下させるか、もしくは翻訳を阻害することで標的遺伝子の発現を負に制御する。

Puf5 は、*HO*mRNA の 3' UTR 内の UUGU 配列を認識して結合し、*HO* 遺伝子の発現を転写後の段階において負に制御する (図 6)。 *puf5* 変異株では、野生型株で抑制される娘細胞での *HO* 発現、接合型変換が抑制されない。すなわち、Puf5 は *HO* 遺伝子の母細胞特異的発現、非対称分裂の制御に関与する。

### 4.3 おわりに

酵母のような単細胞の生物でも、その細胞の中の機構は驚くほど複雑であり、まだまだわからないことがいっぱいある。また、酵母における mRNA 局在と局所的翻訳の分子機構は、高等動物の系と多くの共通点をもっている。酵母を用いた研究、とくに遺伝学的手法を用いた関連因子の同定と解析は非常に強力な研究手段であり、ヒトの研究のよいモデル系になることは、すでに細胞周期、DNA 複製、遺伝子発現制御、分泌、さらにはオートファジー (注: 細胞の自食作用による栄養飢餓時の応答/オートファジーを発見された大隅良典先生をはじめ、日本の研究者が世界をリードした研究を行っている) など、さまざまな分野で明らかにされ、今でも精力的な研究が続けられている。私が研究している mRNA 局在や非対称分裂の分野でも、酵母の研究がヒトの研究のよいモデルになることは間違いないと思っている。mRNA 局在の機構は、酵母やショウジョウバエの非対称分裂、ショウジョウバエやアフリカツメガエルの卵や胚の形成、線維芽細胞におけるアクチン mRNA の局在による細胞運動の制御の系、神経細胞における RNA 局在を介した可塑性の制御の系など、さまざまな生物種においてその重要性がわかっている。酵母やショウジョウバエの非対称分裂の系では、細胞の運命決定因子をコードする RNA 局在が細胞の非対称分裂を導き、ショウジョウバエやアフリカツメガエルでは母性 mRNA の局在が卵母細胞や胚の前後軸決定や背腹軸決定に必須である。線維芽細胞におけるアクチン mRNA の局在は、細胞運動や形態形成に働いている。また、神経細胞における RNA 局在は、局所的なタンパク質合成を可能にし、神経の可塑性に関わっている。にもかかわらず、RNA 局在の分野は、他の研究分野 (DNA

複製、遺伝子発現制御など) に比べて、研究者人口も少なく、まだわかっていないことが多い。酵母がヒトの mRNA 局在について、多くのヒントを与えてくれるよいモデル系であり続けることを期待して、かつ楽しみにして、研究を続けていきたいと思っている。

## 著者紹介

氏名：入江 賢児（いりえ けんじ）

1965 年生まれ



著者近影

## 学歴及び職歴：

- |               |                        |    |
|---------------|------------------------|----|
| 1987 年        | 大阪大学工学部醗酵工学科           | 卒業 |
| 1989 年        | 大阪大学大学院工学研究科修士課程醗酵工学専攻 | 修了 |
| 1989 年        | 大阪大学大学院工学研究科博士課程醗酵工学専攻 | 進学 |
| 1990 年        | 大阪大学大学院工学研究科博士課程醗酵工学専攻 | 退学 |
| 1991 年～1996 年 | 名古屋大学理学部助手             |    |
| 1996 年～2000 年 | 名古屋大学大学院理学研究科助手        |    |
| 1997 年～1999 年 | 日本学術振興会海外特別研究員         |    |
| 2000 年～2001 年 | 大阪大学大学院医学系研究科助手        |    |
| 2002 年～2005 年 | 大阪大学大学院医学系研究科助教授       |    |
| 2005 年～現在     | 筑波大学大学院人間総合科学研究科教授     |    |