

論文内容の要旨

申請者氏名 佐二木 健一

生命体にとって細胞を増殖するか、増殖を停止して G0 期に入るかを決定するのは非常に重要な選択である。G0 期での細胞は細胞周期を停止するのみならず、分化やアポトーシス、老化の前段階にあると考えられ、G0 期の研究は生物学的、医学的に大きな重要性を持っている。しかしながら、これまでの細胞周期の研究は増殖期に重点が置かれ、G0 期導入や維持の機構や、そこに関わる遺伝子はほとんど明らかにされてこなかった。私達は分裂酵母が、培養液中から窒素源を枯渇させる事で容易に G0 期に誘導される点に注目し、このモデル系を使って G0 期の導入や維持に必須な遺伝子を同定する事とした。そのために本研究では 610 株の温度感受性変異株ライブラリーを作製し、その中で G0 期導入時または維持時の生存率を低下させる株を選別した。そして選別した株の責任遺伝子を決定する事により、G0 期の導入または維持に必須な 33 遺伝子を同定した。

G0 期導入時には 7 遺伝子を同定し、これらの遺伝子はその報告されている機能により 3 つのグループに分ける事が出来た。1 つ目はストレス応答 MAP キナーゼ経路に関わる遺伝子、*wisl*, *sty1* であり、これらの変異株の解析からストレス応答 MAP キナーゼ経路は G0 期導入時に細胞成長と細胞周期の両方を制御している事が示唆された。2 つ目は小胞膜融合に関わる遺伝子、*vam6*, *vps11*, *ypt5* で、これらの変異株の解析から G0 期導入時には活発な小胞合成が起きている可能性が示唆され、小胞を融合して処理する経路の重要性が示された。3 つ目はエンドサイトーシスに関わる遺伝子、*end4*, *wsp1* でこれらの変異株の解析からエンドサイトーシスが浸透圧の変化に対する耐性獲得に必須ではないかと考えられた。

また、G0 期維持時には 26 遺伝子を同定した。その機能は細胞周期制御、コヒージョンとクロマチンリモデリング、ATP 代謝、小胞輸送、細胞壁合成、RNA 合成・代謝等、多岐に渡っており、この事からも G0 期維持時にも活発な細胞内活動は起きており、積極的に G0 期が維持されている様子が想像された。本研究では、その中から特に Fcp1 に注目した。Fcp1 は RNA ポリメラーゼ II、CTD の脱リン酸化酵素であり、転写機構そのものに作用するため、その影響は転写全般に及ぶものと予測された。しかしながら、トランスクリプトーム解析を行うと、この変異株中では遺伝子によって発現の変動が様々であり、遺伝子特異的に影響が出ている事が確認された。更に、増殖期と G0 期で影響を受ける遺伝子の種類が全く異なっていた。変異株中での遺伝子の発現量の変化が表現型にも反映されていた事から、Fcp1 が増殖期と G0 期の差異を転写レベルで制御している可能性が示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 佐二木 健一

近年、細胞周期を停止することが生物学的にも医学的にも重要であることが認識され始めた。細胞周期の停止機構として G0 期への導入、G0 期の維持が重要と考えられているが、窒素源を枯渇させた培地中で培養した分裂酵母の細胞をモデル系として、真核生物の G0 期の包括的な理解を目的として本研究が行われた。網羅的かつ直接的に G0 期での生存に必須な分子を同定するために、既に作製された 1015 株の温度感受性変異株ライブラリーの各株を G0 期に導入することにより、G0 期構築に必須な機能の解明を行った。

G0 期導入時に欠陥を示す株の中から 7 個の責任遺伝子を同定した。その機能解析により、G0 期導入時に見られる、成長と細胞周期の制御、細胞構造の変化、ストレス耐性の強化、という 3 つの事象それぞれに関連する遺伝子群を発見した。*wisl*, *styl* 変異株の解析から、ストレス応答 MAP キナーゼ経路が窒素源枯渇後に細胞成長と細胞周期の両方の制御に関わっている事が示された。また、*vam6*, *vps11*, *ypt5* 変異株の解析から、窒素源枯渇後の細胞内では活発な小胞合成が起こるため、小胞を融合して処理する経路が必須であることが示唆された。そして *end4*, *wsp1* の変異株の解析から、細胞環境を再編成し、外部ストレスの抵抗性を高めるため、エンドサイトーシスが必須である可能性を示した。

また、G0 期維持時に生存率を落とす株を解析し、26 個の責任遺伝子を同定した。これらは菌類から哺乳類まで保存されており、過去の知見から、G0 期維持には細胞周期制御、ATP 代謝、小胞輸送、細胞壁合成、RNA 合成・代謝等の機能が重要であることが示唆され、G0 期においても活発な細胞内活動が起こっていることを示した。例えば G0 期の生存率維持に著しい欠陥を示し、転写機構に直接作用する *fcp1* の変異株は 1 塩基の置換で、広範かつ特異的な遺伝子の転写に影響を与えることがわかった。以上の結果からこれまでほとんど不明であった G0 期構築に必須な機能が明らかになって来た。

以上のように、本論文は細胞が細胞周期を停止したまま生存し、その機能を維持する機構を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。