

細胞質分裂の分子機構の異種間分裂酵母における相違性とその考察

安田 剛 (筑波大学 生物学類)

指導教員：中野 賢太郎 (筑波大学 生命環境系)

研究の目的と背景

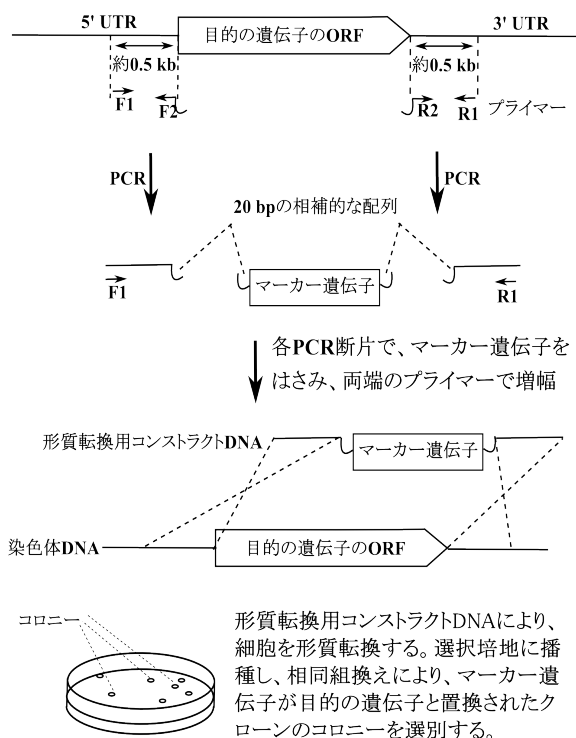
細胞質分裂に必要なアクチンとミオシンの相互作用とその時間的な制御は、それらを仲介する別の蛋白質の働きを必要とする。私が着目したアニリンは、C末端側にプレクストリン相同ドメイン (PH)を有し、それ以外の領域を介してアクチン繊維やミオシンと直接に結合する。その機能を抑制した動物細胞は分裂溝の貫入が不安定であり、細胞質分裂に失敗しやすい。多くの菌類はアニリン様蛋白質の遺伝子をもたないが、分裂酵母はそれを有する。この遺伝子を破壊した分裂酵母 (P種)では、染色体分配以前の分裂中期に形成されるアクトミオシンリングの形成が分裂後期へと遅れ、さらにその形成位置や配向性に異常が生じる。先行研究から、P種のアニリン様蛋白質は他の蛋白質を介し、アクチン繊維やミオシンを予定分裂面に集積させるモデルが提唱されている。今回、同属他種の分裂酵母 (J種)を用いて、アニリン様蛋白質の細胞機能を研究した。P種の研究成果と較べることで、種間の細胞質分裂の分子機構の保存性と相違性について考察した。

実験方法

細胞の培養と遺伝子導入: 培養には、栄養培地 YE または最少培地 SD を用いた。SD には必要に応じてアミノ酸や塩基を添加し、栄養要求性株の性質を利用して外来遺伝子を栄養マーカーと共に保持させるために使用した。

遺伝子導入は、エレクトロポレーション法により行った。P種については酢酸リチウム法も用いた。

遺伝子破壊株の作製: 下図のように、マーカー遺伝子を目的の遺伝子と相同組換えすることで遺伝子破壊株を作製した。遺伝子のタギングにも同様の手法を用いた。



結果

異種間分裂酵母のアニリン様遺伝子の機能相補性について

P種のアニリン様遺伝子破壊株は 25 °Cでは生育可能だが、36 °Cでは細胞質分裂の異常がシビアになり生育できない。この細胞を、J種のアニリン様遺伝子の cDNA を発現ベクターに組み込んだもので形質転換し、機能相補性を調べた。その結果、P種のアニリン様遺伝子破壊株の温度感受性増殖は、J種のアニリン様遺伝子の発現によっては補われないことがわかった。蛍光タグを融合したJ種のアニリン様タンパク質のP種における細胞内局在については現在調べている。J種の細胞内で、蛍光タグを融合したアニリン様タンパク質は、核内や細胞質に局在した。この局在性は、P種のアニリン様蛋白質の細胞内局在と類似していた。以上より、P種とJ種のアニリン様タンパク質の細胞内挙動は似通っているが、機能は完全には保存されていないと考えられた。

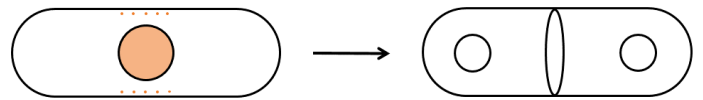


図: 細胞表面に集積したアニリン様タンパク質が分裂面を決定する

アニリン様遺伝子の機能破壊について

アニリン様遺伝子を破壊したJ種の細胞では、有意に隔壁形成完了後に分離しない細胞の割合が増加した。DNA とアクチン繊維、及び微小管を3重染色して詳細に観察した結果、J種の細胞では通常、染色体分配の後期に分裂面に形成されるアクチンのリング構造の形状が、この遺伝子破壊株で異常になるのがしばしば認められた。

考察

予定分裂面へのアクトミオシンリングの形成はP種では染色体分配前であるのに対し、J種では動物細胞と同様に、染色体分離後である。このタイミングの相違は、アニリン様蛋白質の機能の違いに起因する可能性がある。つまりP種では、アニリン様蛋白質がミオシンを分裂面に集積するのと並行し、アクチン重合因子の働きを促す。一方、J種のアニリン様蛋白質では、この早期のアクチン重合を促す能力が欠如しているのかもしれない。細胞が小型のP種では、より制限された空間内 (= 予定分裂面) にアクチンリングの構成成分を効率的に集積させるため、分子進化によりアニリン様蛋白質が高いアクチン重合促進作用を得た可能性が考えられる。今後、これらのアニリン様蛋白質の機能ドメインの探索と比較を行うことで、これらの差異を生み出す分子基盤が理解できると思われる。