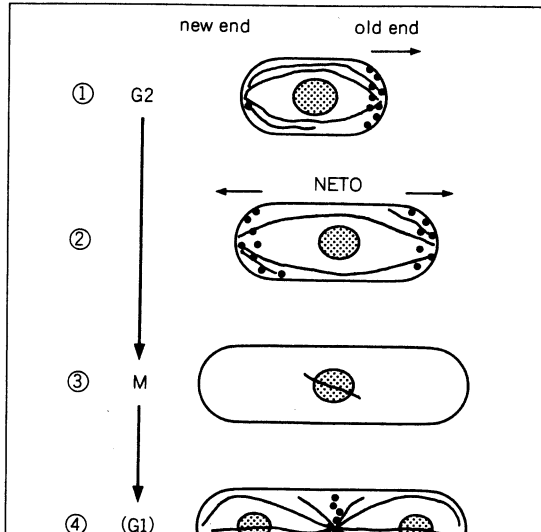


形態を示す。このように、細胞極性の制御は、正常な分化・増殖過程において必須であると考えられる。すなわち、細胞骨格系の維持・調節とDNA複製、染色体分裂サイクルを共役させる分子機構が存在することを示唆している^{1,2)}。

細胞形態制御は、分化・増殖過程において、細胞内外のさまざまなシグナル伝達を介する複雑な機構であるが、それら多様なシグナルの最終到達点は、1細胞そのものであり、それゆえ多細胞生物の形態形成を理解するうえで、単一細胞である酵母における形態形成制御機構の解明は必須であると考えられる。筆者らは、モデル系として分裂酵母を選び、細胞形態制御の分子機構について研究を進めている。以下、分裂酵母を中心に、細胞形態と細胞周期について紹介する。



II. 形態異常変異体

細胞周期過程における極性成長の変化から、筆者らは、極性成長の調節に、① 成長端を決定するための位置情報と、② 成長極性をすばやく変化させるための動的情報の2つの要因が重要であると考えた。そこで、この2つの過程を制御する遺伝子を取得するため、極性成長に欠損のある変異体の系統的な分離を行なった。成長極性を制御するための情報発生は、細胞周期依存的であり、この情報は、形態形成のみならず増殖過程においても重要な役割を担うことが予想される。そこで、生育が高温または低温感受性かつ成長極性に異常を示す変異体の分離を試みた。変異体の分離には、蛍光染料である calcofluor を用いた。この染料で細胞を染色すると、隔壁が最も強く染まり、また新しく合成された細胞壁も染まる。この染料により、細胞形態ばかりでなく成長極性も容易に知ることができる。変異剤処理した20万株より約3000の高温感受性株、約2000の低温感受性株を選択後、それらの株を calcofluor で染色し、細胞形態異常を示す変異体を視覚的に選択した。その結果、それらは以下の4つのグループに分類され

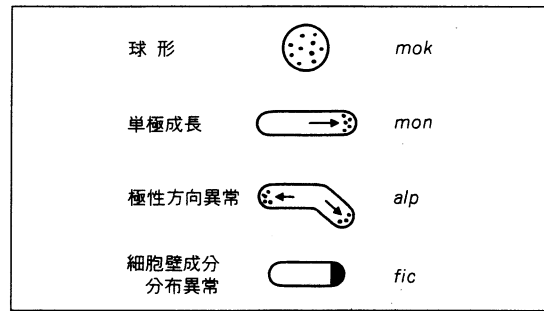


図2 形態異常変異体

小さな黒丸はアクチン局在を示す。矢印は成長方向を示す。黒い部分は calcofluor 異常染色部分を示す。詳細は本文参照。

るスタウロsporinに超感受性を示す11遺伝子座の変異体の1つ *sts6* 変異体としても取得された¹³⁾。 *pck1*⁺, *pck2*⁺ は重複しつつ細胞増殖に必須な機能をもつ。 *pck2* 単独変異体は、細胞形態が異常であり、球形、洋梨様型、折れ曲がった形態を示す。 *pck2* 変異体がスタウロsporinやβ-グルカナーゼ(ザイモリアーゼ)に超感受性を示すこと、またプロトプラストからの再生の際、アクチンの再局在化が起きないために再生不能であるが、DNA複製、核分裂、細胞成長過程が進行し、巨

(*mok*; morphological and kinase inhibitor sensitive), ② 成長極性が一定で変化できないと考えられる単極成長変異体 (*mon*; monopolar growth), ③ 位置情報に欠損があると考えられる極性方向異常変異体 (*alp*; altered polarity), ④ 極性の動的情報に欠損があるため、細胞壁構成成分の分布に異常を示す変異体

は、細胞壁合成と成長極性の確立に必須な役割をもち、しかもこの経路は染色体サイクルとは別経路であることが示唆された。

b. IIA型様プロテインホスファターゼ (*ppe1*)

IIA型プロテインホスファターゼに保存されているアミノ酸配列をもとに合成されたオリゴヌクレオチド

表1 細胞形態制御に関与する遺伝子

遺伝子 (座)	遺伝子産物	変異体の表現型	文献
<i>pck2/sts6/mok3</i>		球形, 洋梨様, 折れ曲がり, ST ^s	
<i>ppe1</i>	IIA 型様プロテインホスファターゼ	球形, 低温感受性, ST ^s	12
<i>sts5/orb4/mok2</i>	出芽酵母 Ssd1, 分裂酵母 Dis3 相同領域保持	球形, ST ^s	13
<i>mok1~10</i>		球形, 洋梨様, 温度感受性, ST ^s	
<i>ras1/ste5</i>	GTPase	球形, 接合不能	14~17
<i>cdc42</i>	GTPase	球形, 接合不能, 増殖必須	18
<i>scd1/ral1</i>	Cdc42 の GDP/GTP 交換因子	球形, 接合不能	19, 20
<i>scd1/ral1</i>	出芽酵母 Dis3 相同	球形, 接合不能	19, 20
<i>ral1~4</i>		球形, 接合不能	20
<i>cwg2</i>	ゲラニルゲラニル基転移酵素 I 型 β サブユニット	球形, 細胞壁成分異常	21
<i>shk1/pak1</i>	プロテインキナーゼ出芽酵母 Ste20 相同	球形, 増殖必須	22, 23
<i>orb1~12</i>		球形	24, 25
<i>orb5/ckal</i>	カゼインキナーゼ II α サブユニット	球形	24, 26
<i>ckb1</i>	カゼインキナーゼ II β サブユニット	洋梨様, 低温感受性	26
<i>kin1</i>	プロテインキナーゼ	球形	27
<i>ste10</i>		球形, 接合不能	28
<i>ssp1</i>	プロテインキナーゼ	単極成長, 高温感受性	29
<i>mon1~15</i>		単極成長, 高温感受性	
<i>nda3</i>	β -チューブリン	極性方向異常, 低温感受性	7, 30
<i>alp1~13</i>		極性方向異常, 高温感受性	24, 25
<i>ban1~5</i>		極性方向異常	24, 25
<i>fic1~6</i>		細胞壁成分分布異常, 高温感受性	
<i>ppb1</i>	II B 型プロテインホスファターゼ	多重隔壁, 枝分かれ	31
<i>cab1</i>	アデニル酸シクラーゼ結合蛋白質	形態異常	32
<i>pmk1</i>	MAP キナーゼ相同	形態異常	

ST^s: スタウロスポリン超感受性。

対オス感受性は野生型とほとんど変わらず 細胞壁の すが *cab1* 変異体は細胞質分裂に著しい遅延を起す。

ウロスポリン特異的に超感受性となる変異体を、スタウロスポリンの構造的類似体で阻害作用の異なる K252a に正常であることを指標にして選択した。それらに、*mok* と命名した。*mok* 変異体は 10 遺伝子座、予想どおり、*mok2* は *sts5*、*mok3* は *pck2* と同一遺伝子座の変異であった。*mok* 変異体のなかには、*pck2* 変異体同様、 β -グルカナーゼに感受性を示し、細胞壁の強度が低下したものや、温度感受性の生育が浸透圧保護剤(ソルビトール)によって抑圧されるものなどが存在した。*mok* 変異体の解析により、PKC ネットワークの新たな分子の同定が期待される。

B. GTPase 経路

Ras1 から Cdc42 に至る GTPase 経路が、接合過程における接合因子情報伝達と形態形成に重要な役割を

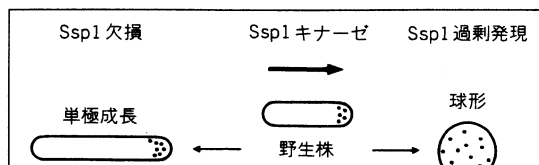
Cdc42 GTPase の GDP/GTP 交換因子 Cdc24 のホモログを、*scd2*⁺ は 2 つの SH3 ドメインをもつ出芽酵母 Bem1 のホモログをそれぞれコードしていた。*scd1*、*scd2* 変異は、以前に分離された *ral1*、*ral3* 変異²⁰⁾ とそれぞれ同一の遺伝子座の変異であった。Ras1 と Scd1 は Scd2 依存的に、さらに Scd1 と Cdc42 もまた Scd2 依存的に結合することが two hybrid 法により明らかにされた。Ras1 と Cdc42 は物理的にも機能的にも連結しているようだ。

cdc42⁺ は出芽酵母の *cdc42*^{ts} 変異を抑圧する機能的ホモログとして取得され、また構造的にも高度に保存されていた¹⁸⁾。遺伝子破壊は致死であり、細胞は球形かつ分裂不能の状態に生育停止していた。Cdc42 は栄養増殖、極性成長に重要な役割をもつ。

2. 単極成長変異体 (極性を動かすために必要な遺伝子)

A. *ssp1*

前述したように, *ppe1* あるいは *sts5* 変異体は, スタ



並にその結果として、細胞の形態形成に重要な役割を果たす。

けることができる。この期間は、中心エンジンとしての MPF (maturation promoting factor) = Cdc2/サイクリン分子の同定から始まり、Cdc2 キナーゼの活性制御機構、結晶構造の決定も含めて Cdc2 (Cdk)/サイクリン分子の“周辺”が明らかにされた。すなわち、細胞周期進行、停止機構のフレームワークがほぼ解明されたといっていだろう。具体的には、G2 → M 期移行の分子機構が明らかになり、CDK インヒビターが登場し、現在は G1 → S 期、特に S 期の開始機構および

- 5) Kanbe, T., Kobayashi, I., Tanaka, K. : *J. Cell Sci.*, **94**, 647-656 (1989)
- 6) Hagan, I. M., Hyams, J. S. : *J. Cell Sci.*, **89**, 343-357 (1988)
- 7) Toda T., Umesono, K., Hirata, A., Yanagida, M. : *J. Mol. Biol.*, **168**, 251-270 (1983)
- 8) Kobori, H., Yamada, N., Taki, A., Osumi, M. : *J. Cell Sci.*, **94**, 635-646 (1989)
- 9) Marks, J., Hagan, I. M., Hyams, J. S. : *J. Cell Sci.*, **5** (Suppl.), 229-241 (1986)
- 10) Mitchison, J. M., Nurse, P. : *J. Cell Sci.*, **75**, 357-376 (1985)

29) Matsusaka, T., Hirata, D., Yanagida, M., Toda, T. : *EMBO J.*, **14**, 3325-3338 (1995)

Yanagida, M., Osumi, M. : *J. Cell Sci.*, **107**, 1131-1136 (1994)

30) Uemura, Y., Toda, T., Yanagida, M. : *Cell*, **90** 24) Wang, Y., Xu, H.P., Ricci, M., Pedersen, J.