

機関番号：15401

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008~2011

課題番号：20380063

研究課題名 (和文) 酵母の細胞極性制御に関する基礎および応用研究

研究課題名 (英文) Study of cell polarity control in yeast

研究代表者

平田 大 (HIRATA DAI)

広島大学・大学院先端物質科学研究科・教授

研究者番号：30243603

研究分野：分子生物学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用生物化学

キーワード：情報伝達、細胞極性、細胞周期、チェックポイント、

## 1. 研究計画の概要

すべての真核細胞は、固有の細胞形態を有し、それは細胞の機能と密接に関係している。細胞形態を決定する重要な因子が細胞極性である。一方、チェックポイント機構は、生命維持にとって重大な異常が生じた際、その異常を解消するまで自身の細胞増殖を停止させる、生命維持にとって必須な機構である。近年、チェックポイント機構の異常が細胞癌化の一要因であることが示され、本機構の理解が、細胞癌化を解明するための中心課題になっている。そこで、本研究では、ヒトのモデル細胞である酵母をつかって、細胞極性と細胞周期との連携制御機構について解析し、その知見を、医薬探索系開発のための基盤研究へと展開する。

## 2. 研究の進捗状況

本研究では、3つのテーマ(目的)を設定し、研究を進めている。それぞれについて、現在の進捗状況を記載する。

## (1) 細胞極性の確立・維持に必須な MOR 経路の解明

MOR(morphogenesis Orb6 network)経路と細胞質分裂の開始を制御する SIN(septation initiation network)経路との機能的関係を調べた。その結果、M期での SIN 経路の活性化が、MOR 経路の最上流分子・Pmo25 を中心体に留めることにより、Orb6 kinase の活性化を阻害している可能性が示唆された。実際、MOR 経路は細胞質分裂時のアクチンリングの収縮を阻害することから、M期に SIN 経路が MOR 経路を抑えることにより、細胞質分裂を促進させ、それにより、細胞質分裂の完了から細胞分裂後の細胞極性の確立への順序を保証する機構の存在が示唆された(公表論文

## 3)。

MOR 経路の新たな構成分子として、新規 GCK/Ppk11 を同定した。Ppk11 は、MOR 経路の補助的な機能を持ち、高温での細胞分離に重要であることが示唆された。具体的には、Ppk11 は隔壁形成部位に局在し、MOR 経路の最上流分子・Pmo25 と結合することにより、Pmo25 の隔壁部位への局在に重要な機能を持つことが示唆された(公表論文2)。

## (2) 細胞極性の変換機構に関する分子機構の解明

細胞極性の変換制御に関する kinase を、分裂酵母 kinase 破壊体セットを利用し、網羅的に探索した。その結果、本機構における、正および負の制御因子として、多数の kinase を同定した(公表論文4)。

DNA 複製異常時の細胞極性変換阻害機構について解析した。その結果、DNA 複製異常時に、活性化したチェックポイント経路の Cds1 kinase が、カルシウム情報伝達分子・カルシニューリンをリン酸化することにより活性化し、さらに、カルシニューリンが微小管末端結合因子である CLIP170/Tip1 を脱リン酸化することにより、細胞極性変換を阻害していることが示唆された。つまり、チェックポイント機構が、細胞増殖のみならず細胞極性をも制御していることを示した(公表論文1)。

## (3) 細胞極性制御分子を標的とする医薬探索系の構築

出芽・分裂両酵母より、カルシウム情報伝達分子と機能関連する遺伝子を網羅的に探索している。さらに、上述の知見(公表論文)をも考慮し、現在、新規医薬探索系のための研究を展開している。

### 3. 現在までの達成度

全体としては、(区分②) おおむね順調に進展している。具体的には、研究テーマ(1)および(2)については、当初の計画以上に進展し、テーマ(3)については、計画どおりに進展している。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究テーマ(1)および(2)については、さらに、研究を進める。一方、研究テーマ(3)については、現在、準備中の各ステップ(医薬探索用酵母株の構築、検出感度の検証等)を確実に進め、論文投稿および特許出願をめざす。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文(全て査読有)] (計6件)

1. Kazunori Kume, Takayuki Koyano, Muneyoshi Kanai, Takashi Toda, and Dai Hirata (2011) Calcineurin ensures a linkage between DNA replication checkpoint and microtubule-dependent polarized growth. *Nature Cell Biology*, 13(3): 234-242.
2. Testuya Goshima, Kazunori Kume, Takayuki Koyano, Yoshikazu Ohya, Takashi Toda, and Dai Hirata (2010) Fission yeast Germinal Center (GC) kinase Ppk11 interacts with Pmo25 and plays an auxiliary role in concert with the morphogenesis Orb6 network (MOR) in cell morphogenesis. *J. Biol. Chem.*, 285(45): 35196-35205.
3. Samridha Ray, Kazunori Kume, Sneha Gupta, Wanzhong Ge, Mohan Balasubramanian, Dai Hirata, and Dannel McCollum (2010) The mitosis-to-interphase transition is coordinated by crosstalk between the SIN and MOR pathways in *Shizosaccharomyces pombe*. *J. Cell Biol.*, 190(5): 793-805.
4. Takayuki Koyano, Kazunori Kume, Manabu Konishi, Takashi Toda, and Dai Hirata (2010) Search for kinases related to transition of growth polarity in fission yeast. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74(5): 1129-1133.
5. Yoshifumi Kobayashi, Tomomi Inai, Masaki Mizunuma, Ichitaro Okada, Atsunori Shitamukai, Dai Hirata, and Tokichi Miyakawa (2008) Identification of Tup1 and Cyc8 mutations defective in the responses to osmotic stress. *Biochemical*

and Biophysical Research Communications. 368(1): 50-55.

[学会発表] (計5件)

1. Kazunori Kume and Dai Hirata, The signaling pathway linking DNA replication to cell polarization, The 6th UK-Japan Cell Cycle Workshop, 10-14 Apr 2011, Windermere UK.
2. Ryohei Tsubakiyama, Masaki Mizunuma, Kazunori Kume, Tokichi Miyakawa, and Dai Hirata, The Ca<sup>2+</sup>-signaling pathways is involved in the replicative lifespan in budding yeast, 2010 CSHL Meeting on Molecular Genetics of Aging, 28 Sep-2 Oct 2010, New York USA.
3. Takayuki Koyano, Kazunori Kume, and Dai Hirata, Search for kinases related to the transition of growth polarity in fission yeast, The 2010 Yeast Genetics and Molecular Biology Meeting, 27 Jul-1 Aug 2010, Vancouver Canada.
4. Ryohei Tsubakiyama, Masaki Mizunuma, Kazunori Kume, Tokichi Miyakawa, and Dai Hirata, Analysis of yeast lifespan mediated by the Ca<sup>2+</sup>-signaling pathways, 49th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, 5-9 Dec 2009, California (San Diego) USA.
5. Dai Hirata, Growth polarity control through regulation of microtubule plus-end tracking proteins by checkpoint kinase, The 5th International Fission Yeast Meeting, 26-31 Oct 2009, Tokyo Japan.

[その他]

解説 (計1件)

久米一規、五島徹也、平田 大、分裂酵母の2つのHippo関連経路のクロストーク、実験医学、Vol.29, 445-448 (2011).