

分裂酵母における減数分裂の制御機構

Regulatory Mechanisms of Meiosis in Fission Yeast

山本 正幸 (YAMAMOTO MASAYUKI)

公益財団法人かずさ DNA 研究所・所長



研究の概要

分裂酵母の減数分裂の研究から新しい制御機構が姿を現しつつある。減数分裂のための mRNA は栄養増殖時には選択的に分解を受け、減数分裂開始の調節にはポリ A 鎖、特異的 6 塩基配列、RNA ポリメラーゼの修飾、非コード RNA などを巻き込んだ RNA 代謝が重要な役割を果たしている。環境情報を感知する情報伝達経路による減数分裂の引き金機構も大きく解析が進んだ。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：遺伝学、発生・分化、減数分裂、情報伝達、RNA

1. 研究開始当初の背景

分裂酵母で減数分裂特異的に発現される一群の mRNA にはそれらを分解に導く DSR 領域が組み込まれており、体細胞分裂時には RNA 結合タンパク質 Mmi1 が DSR を認識してそれらを選択的に除去している。減数分裂時には、減数分裂のマスター制御因子 Mei2 が核内につくる点状構造に Mmi1 が引き寄せられ、減数分裂特異的 mRNA が安定に発現できることが明らかとなっていた。

2. 研究の目的

次の3つの主目的を設定した。(1) 選択的除去と呼ぶ減数分裂のための mRNA を特異的に分解する分子機構の解明、(2) 減数分裂のマスター制御因子 Mei2 タンパク質がもつ「選択的除去」の抑圧以外の未知の機能の解明、(3) 有性生殖に対して抑制と促進の対照的な働きをする2種の TOR 複合体 TORC1 と TORC2 の機能とその制御。1-3 と関わる新規減数分裂関連因子の性格付けを進める。

3. 研究の方法

Mmi1 と物理的あるいは遺伝学的に相互作用する因子を探索し、その性格付けを進めた。また、活性型 Mei2 による減数分裂誘導を抑圧できる因子を探索した。減数分裂誘導のための情報伝達と遺伝子発現制御の接点で働く TOR キナーゼや MAP キナーゼについて、試験管内反応で基質のリン酸化を調べた。

4. これまでの成果

(1) mRNA の選択的除去分解機構について以下のことを解明した。標的の mRNA はその3'末端にポリ A 配列が付加される必要があり、このポリ A 付加を行うのは、一般の mRNA にポリ A をつける酵素であって、RNA 分解誘導に特化したポリ A 付加複合体の TRAMP 複合体ではない。付加されたポリ A 鎖にはポリ A 結合タンパク質 Pab2 が結合し、DSR に結合する Mmi1 と協同して、分解酵素複合体 exosome を呼び込むと考えられる。一方、除去を受ける mRNA の DSR には Mmi1 が結合するが、数種の標的 mRNA を比べても DSR 配列にはほとんど共通性が見いだされていなかった。解析を進めた結果、DSR の基礎となっているのは Mmi1 に親和性のある4種の6塩基の配列で、それらが複数寄り集まることで強い DSR 活性が生じてくることが分かった。さらに、Mei2 タンパク質と結合し、Mmi1 タンパク質を不活性化させる核内ドット構造を作る meiRNA には、以前同定したものより長い3'テイル部分をもつ分子種が存在し、このテイル部分には上記の6塩基配列が多数含まれることが明らかとなった。すなわち、meiRNA は Mmi1 タンパク質をおびきよせる疑似餌であるという興味深い機構が浮かび上がってきた。

(2) Mei2 タンパク質が減数分裂開始機構で果たす新奇の役割の探求では、遺伝学的スクリーニングから、Mei2 活性に影響する因子として、RNA ポリメラーゼ II の C 末端領域

(pol II CTD)がもつ7アミノ酸残基リピート中の Ser-2 をリン酸化するキナーゼ CTDK-I が捉えられた。Mei2 と CTDK-I の関係については、*mei2* 遺伝子の主要な転写因子である Ste11 をコードする *ste11* 遺伝子の発現誘導に、CTDK-I が不可欠であることが明らかとなった。減数分裂誘導条件である窒素源飢餓下では、pol II CTD Ser-2 のリン酸化が CTDK-I 依存的に増加した。さらに、CTD リン酸化の制御に、ストレスに応答する Sty1 MAP キナーゼの経路が関与していることを解明した。Sty1 は試験管内で CTDK-I の α (触媒)サブユニットをリン酸化できた、一方、栄養源が豊富な状況で、Mei2 の活性化型変異体 Mei2-SATA を人為的に発現させて異所的減数分裂を誘導した場合にも、pol II CTD Ser-2 のリン酸化の増加が観察され、*ste11* の転写誘導が起こった。この場合にも、リン酸化には Sty1 MAP キナーゼ経路の働きが必要であった。Sty1 や Ste11 はこれまで *mei2* 遺伝子発現のための上流因子と位置づけられており、今回の発見は、活性化した Mei2 が Sty1 MAP キナーゼの経路に MAPKKK を介して正のフィードバックシグナルを与えることを示している。Mei2 活性化がもたらす現象のいくつかは、このフィードバック制御により説明可能である。

(3) 分裂酵母の TOR キナーゼ経路について、TORC1 と TORC2 の下流因子の同定が進み、公表を準備している。

以上に加えて、研究中に明らかになった減数分裂に関わる新たな因子の解析を進め、次のような成果を得た。

a) 減数分裂前期の核の周期的往復運動に必要なダイニン軽中鎖遺伝子を同定した。

b) 分裂時に核膜が崩壊しない分裂酵母において、減数第二分裂の一時期にだけ核膜の透過性が増大し、核と細胞質の隔離がなくなることを見いだした。

c) 分裂酵母の減数第二分裂で、紡錘体の形成を阻害しても染色体分配が進行することを見いだした。紡錘極体から構築が始まる前胞子膜が紡錘体機能を代替していた。

d) 減数分裂前期に紡錘極体からいくつかの構成因子が離脱し、第一分裂開始直前に再結集してくることを見いだした。その制御には Polo キナーゼが関係していた。

e) 共同研究で、Mmi1 が減数分裂特異的遺伝子領域に RNA 干渉因子を呼び込み、一過性のヘテロクロマチンを形成させることを明らかにした。

f) 共同研究から、Mei2 ドットが相同染色体の対合中心として機能し、その機能の主役は非コード RNA の meiRNA であることが明らかとなった。

5. 今後の計画

研究代表者の異動に伴い研究チームが縮小するため、本研究の柱である3課題により集中し、それらを統合して、MAP キナーゼや TOR キナーゼが関与する減数分裂開始のための情報伝達機構と、mRNA の選択的除去を中心とする減数分裂遺伝子の機能発現との連携を、分子レベルで明らかにして行く。Mei2 によるフィードバック機構の詳細も解析を進める。エピゲノムや核膜構造にまで研究は発展してきているが、これらについては共同研究を推進して、ここまでの成果の上に一層の展開を図りたい。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

M. Ohta, M. Sato, M. Yamamoto, SPB components are reorganized during fission yeast meiosis. **Mol. Biol. Cell** 印刷中 (2012).

D.-Q. Ding, (4 名), M. Yamamoto, Y. Hiraoka, Meiosis-specific non-coding RNA mediates robust pairing of homologous chromosomes in meiosis. **Science** 印刷中 (2012).

A. Yamashita, (8 名), M. Yamamoto, Hexanucleotide motifs mediate recruitment of the RNA elimination machinery to silent meiotic genes. **Open Biol.** 2:120014 (2012).

E. Hiriart, (2 名), A. Yamashita, (8 名), M. Yamamoto, A. Verdel, Mmi1 RNA surveillance machinery directs RNAi complex RITS to selective meiotic genes in fission yeast. **EMBO J.** 印刷中 (2012).

T. Akera, M. Sato, M. Yamamoto, Interpolar microtubules are dispensable in fission yeast meiosis II. **Nat. Commun.** 3: 695 (2012).

Y. Sukegawa, A. Yamashita, M. Yamamoto, The fission yeast stress-responsive MAPK pathway promotes meiosis via the phosphorylation of Pol II CTD in response to environmental and feedback cues. **PLoS Genet.** e1002387 (2011).

K. Arai, M. Sato, K. Tanaka, M. Yamamoto, Nuclear compartmentalization is abolished during fission yeast meiosis. **Curr. Biol.** 20, 1913-1918 (2010).

S. Yamanaka, A. Yamashita, Y. Harigaya, R. Iwata, M. Yamamoto, Importance of polyadenylation to the selective elimination of meiotic mRNAs in growing *S. pombe* cells. **EMBO J.** 29, 2173-2181 (2010).

ホームページ等

研究代表者の異動に伴い現在新たに準備中