

酵母遺伝学から線虫の分子生物学へ

久本 直毅・松本 邦弘*

細胞内シグナル伝達機構は、外界からのシグナルを細胞内に伝達し、さまざまな応答を引き起こす上で重要な役割を果たしている。真核生物における細胞内シグナル伝達機構に関する今日までの遺伝学および分子生物学的研究による結論のひとつとして、細胞内シグナル伝達機構は、酵母からヒトにいたるまで驚くほど高度に保存されているということが挙げられる。真核生物としてはもっとも単純だと考えられていた出芽酵母による研究から、シグナル伝達機構の骨組みが発見され、それが哺乳動物での研究にも寄与した例は数多く存在する。そのようなシグナル伝達機構のひとつとして、MAP キナーゼカスケードがある。¹⁾ MAP キナーゼカスケードは、増殖因子などによる刺激により活性化する細胞内シグナル伝達機構の一つであり、MAP キナーゼ、MAP キナーゼキナーゼ (MAPKK) および MAP キナーゼキナーゼキナーゼ (MAPKKK) から構成されている。MAP キナーゼカスケードは酵母だけでなく、ショウジョウバエや線虫をはじめ哺乳動物にいたるまで、真核生物全般で高度に保存されている。哺乳動物では、MAP キナーゼは ERK 型、JNK 型、p38 型の 3 つのサブタイプが存在し、多様なシグナル伝達経路に関与することが明らかになっている。ERK 型の MAP キナーゼは増殖因子の刺激により活性化し、細胞増殖や分化を誘導するのに対し、JNK および p38 MAP キナーゼは、浸透圧ショック・紫外線などのストレスや TNF などのサイトカインの刺激などにより活性化され、ストレス応答やアポトーシスを引き起こす。

出芽酵母 *S. cerevisiae* では、Bck1 (MAPKKK)-Mkk1/2 (MAPKK)-Slt2 (ERK 型 MAP キナーゼ) より成る MAP キナーゼカスケードが細胞壁合成に、Ste11 (MAPKKK)-Ste7 (MAPKK)-Fus3 (ERK 型 MAP キナーゼ) より成る MAP キナーゼカスケードが接合フェロモンシグナル伝達に、Ste11-Ste7-Kss1 (ERK 型 MAP キナーゼ) より成る MAP キナーゼカスケードが窒素源飢餓時の菌糸状生育に、Ssk2/Ssk22/Ste11 (MAPKKK)-Pbs2 (MAPKK)-Hog1 (p38 型 MAP キナーゼ) より成る MAP キナーゼカスケードが高浸透圧耐性に関与することが明らかになっており、遺伝学が使用できるモデル生物として MAPK カスケードの研究に大きく寄与してきた (図1)。²⁾ しかし、酵母は同じ真核生物とはいえ、ヒトからは進化的に大きく

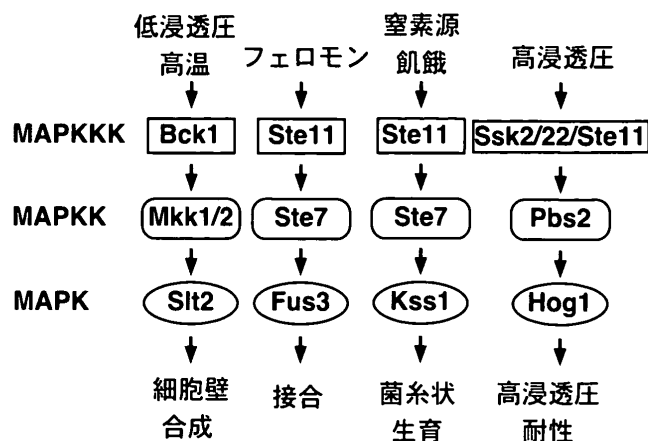


図1. 出芽酵母の MAP キナーゼカスケード

離れた単細胞生物であるため、哺乳動物のような多細胞生物の細胞内シグナル伝達とは異なる部分も数多く存在する。さらに、多細胞生物特有の“個体レベル”の機能については系として対応できない。そこで、多細胞のモデル生物のひとつとして、線虫 *C. elegans* を用いた個体レベルでの機能の解析が進められている。*C. elegans* は遺伝学的解析が可能であるだけでなく、遺伝子導入や破壊などの実験手法も充実しており、ゲノムプロジェクトにより全ゲノム配列も分かっているなど、モデル動物として有利な点をいくつも備えている。これまでの研究から、*C. elegans* の ERK 型 MAP キナーゼカスケードでは、EGF レセプターホモログ Let-23 からのシグナルが、癌遺伝子 Ras のホモログ Let-60 を介して、Lin-45 (Raf ホモログ)-Mek-1 (MAPKK)-Mpk-1 (ERK 型 MAP キナーゼ) より成る MAP キナーゼカスケードを活性化して、転写因子を制御することにより細胞分化を誘導することが判明している (図2)。³⁾ このカスケードは哺乳動物の ERK 型 MAP キナーゼカスケードとまったく同じであり、このことは、線虫を用いて MAP キナーゼカスケードを研究することが、種を越えた普遍的な機能を解明する上で有効な方法であることを示唆する。

一方、JNK および p38 型キナーゼカスケードについては、ERK 型キナーゼカスケードに比べて解析が遅れていた。われわれは、MAP キナーゼカスケードの種を越えた普遍性に着目し、出芽酵母の p38 ホモログである HOG1 の変異株を用いて線虫の JNK および p38 カス

*著者紹介 (代表) 名古屋大学大学院理学研究科 (教授) 〒464-8602 名古屋市千種区不老町
TEL. 052-789-3000 FAX. 052-789-2589 E-mail: g44177a@nucc.cc.nagoya-u.ac.jp

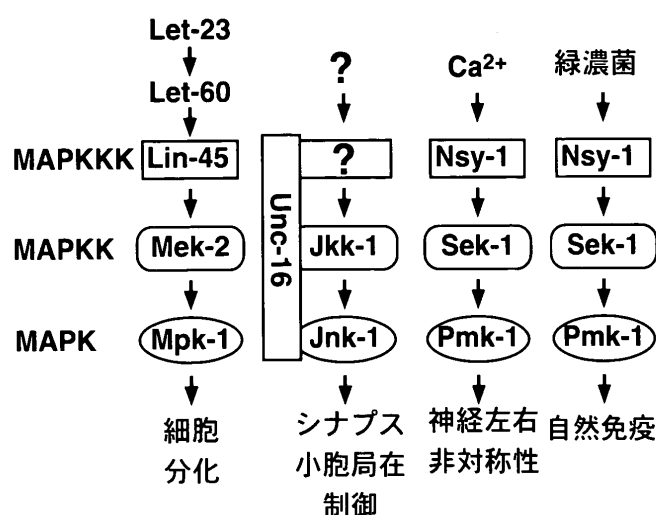


図2. 線虫のMAPキナーゼカスケード

ケードに関与する遺伝子の単離を試みた.^{4,5)} まず, 線虫 cDNA ライブラリーを出芽酵母 *hog1* 変異株に導入して発現させ, これを相補する線虫遺伝子を機能的にスクリーニングすることにより線虫 JNK ホモログである JNK-1 と, p38 ホモログである PMK-1 をそれぞれ単離した. JNK-1 および PMK-1 の *hog1* 変異株の相補能は, *Hog1* の上流で機能する MAPKK である *Pbs2* に依存していたため, これを利用して次に JNK-1 および PMK-1 を活性化する MAPKK を出芽酵母を用いてスクリーニングした. 具体的には, *pbs2* 変異株に JNK-1 または PMK-1 を発現させておき, そこに線虫 cDNA ライブラリーを導入することにより, JNK-1 または PMK-1 依存的に *pbs2* 変異を抑圧する線虫遺伝子をスクリーニングした. その結果, JNK-1 を活性化する MAPKK として JKK-1 遺伝子を, PMK-1 を活性化する MAPKK として SEK-1 をそれぞれ単離した. このように, 線虫のホモログ遺伝子が酵母の変異株を相補できるということは, JNK および p38 型キナーゼカスケードの基本的な骨組みが酵母と線虫の間で同じであることを示している.

これらの因子の個体レベルでの機能を調べるために, それぞれの因子について線虫の遺伝子破壊株の単離を行い, それらの機能解析を行った. その結果, JNK-1 MAP

キナーゼおよび JKK-1 MAPKK は, 共に D 型運動神経においてスカフォールドタンパク質 JSAP1 のホモログである UNC-16 と複合体を形成し, シナプス小胞の局在制御に関与することが明らかになった.⁶⁾ また, SEK-1 は, NSY-1 (ASK1 MAPKKK ホモログ)-SEK-1-PMK-1 カスケードを形成し, カルシウム依存的な嗅覚受容神経細胞における左右非対称性の制御や, 緑濃菌などの線虫への感染にたいする自然免疫に重要な役割を果たしていることを明らかにした.^{7,8)}

このように, 種を越えて保存された遺伝子あるいはカスケードの解析は, その内容に応じて酵母や線虫などのモデル生物を使い分けることにより, より機能的な解析が可能になる. 酵母は, 細胞レベルでの解析や遺伝子スクリーニングに威力を発揮するし, 線虫は個体レベルでの解析に有利である. 哺乳動物において明らかになっている JNK および p38 MAP キナーゼカスケードの因子については, 線虫にホモログがほぼ全て存在していることがゲノムプロジェクトのデータから判明している.⁹⁾ これらの因子について個体レベルで網羅的に解析することにより, JNK および p38 MAP キナーゼカスケードの線虫における完全なモデルを構築することを目指している. それを哺乳動物細胞でのデータと比較することにより, 種を越えて保存された MAP キナーゼカスケードの機能を浮かび上がらせることができるのではないかと考えている.

文 献

- 1) Cobb, M. H.: *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **71**, 479 (1999).
- 2) Gustin, M. C. *et al.*: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **62**, 1264 (1998).
- 3) Selfors, L. M. and Stern, M. J.: *Bioessays*, **16**, 301 (1994).
- 4) Kawasaki, M. *et al.*: *EMBO J.*, **18**, 3604 (1999).
- 5) Tanaka-Hino, M. *et al.*: *EMBO Rep.*, **3**, 56 (2002).
- 6) Dana, T. B. *et al.*: *Neuron*, **32**, 787 (2001).
- 7) Sagasti, A. *et al.*: *Cell*, **105**, 221 (2001).
- 8) Kim, D. H. *et al.*: *Science*, **297**, 623 (2002).
- 9) Plowman, G. D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **96**, 13603 (1999).