酵母接合因子のシグナル伝達機構†

入江 賢児, 松本 邦弘

(名古屋大学理学部)

酵母にはペプチド性ホルモンである接合因子を、外界のシグナルとする情報伝達系が存在する。この接合因子の情報伝達系は、細胞周期の G1 期から S 期への移行を負に制御し、一倍体細胞から二倍体細胞の形成を誘導する。このように接合因子は、増殖停止と一種の細胞分化を引き起こすシグナルとして働くことから、酵母接合因子による情報伝達機構は、外界刺激による細胞周期の制御および分化誘導の機構のよいモデル系になるものと期待される。本稿では、酵母の接合因子情報伝達系について、最近の知見を中心に紹介する。なお、本稿で用いる酵母は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を意味する。

1. 接合因子シグナル伝達系

接合因子シグナル伝達系に関与する遺伝子とその産物を図 1 に示した。酵母には 2 種類の一倍体細胞 (a , α 細胞) が存在し、これら一倍体細胞は接合することにより二倍体細胞 (a/α) を形成する。この接合の過程は、それぞれの一倍体細胞が産生する接合因子 (a 因子, α 因子) と、それらの受容体 (STE 2: α 因子受容体, STE 3: a 因子受容体) との相互作用により開始される。すなわち、 a 細胞は a 因子を、 α 細胞は α 因子をそれぞれ分泌し、両細胞の共存化で a 因子は STE 2 を介して a 細胞のみに、また a 因子は STE 3 を介して α 細胞のみに作用する。STE 2, STE 3 受容体は三量体 G 蛋白質に共役しており、G 蛋白質の下流で作用するプロテインキナーゼ (STE 7, STE 11, FUS 3) を介して、転写因子である STE 12 を活性化し、接合に関与する一群の遺伝子の発現を誘導する。また、G1 サイクリンを不活性化することにより細胞周期の G1 期での増殖停止を引き起

こす。この接合因子シグナル伝達経路は、受容体を除いて a 細胞, α 細胞ともに共通である。

2. 接合因子受容体と G 蛋白質

接合因子受容体である STE 2 および STE 3 は、共に 7 つの疎水性領域を持つ膜蛋白質で、その高次構造は動物細胞のロドプシンや β -アドレナリン受容体と類似している。また、これらの動物細胞の受容体と同様に、 α (GPA 1), β (STE 4), γ (STE 18) の 3 種類のサブユニットからなる G 蛋白質が、STE 2, STE 3 受容体と共役している。動物細胞のホルモン伝達系の場合、リガンドによる受容体刺激により α サブユニット上で GDP-GTP 交換反応が促進され、 $\beta\gamma$ サブユニット複合体より遊離した GTP 結合型の α サブユニットが、増幅体を活性化し下流にシグナルを伝達する。これに対し酵母の場合、接合因子が受容体に作用すると、GTP 結合型の α サブユニットより遊離した $\beta\gamma$ サブユニット複合体が増幅体を活性化し、遺伝子発現の誘導および G1 期での増殖停止を引き起こすシグナルが伝達されと考えられている⁽¹⁾。

3. G 蛋白質の活性を制御する因子

遺伝学的解析により、酵母接合因子シグナル伝達系において、受容体と G 蛋白質のまわりで働く遺伝子がいくつか同定されている。CDC 36, CDC 39, CDC 72, CDC 73, SRM 1 などの遺伝子に変異が起こると、接合因子や受容体に非依存的にシグナルが伝達されることから、これらの遺伝子産物は接合因子シグナル伝達系において負の制御因子として作用していると考えられる。このうち CDC 72 は NMT 1 遺伝子と同一で、 α サブユニットにミリスチン酸を付加する酵素をコードする⁽²⁾。また、CDC 36 は α サブユニットの翻訳後修飾に、CDC 39 は受容体と α サブユニットの共役に関与する可能性が示されている⁽³⁾。SRM 1 はスプライシングに関与する PRP 20 遺伝子と同一で、高等動物の RCC 1 遺伝子の相同遺伝子であるが、接合因子シグナル伝達系における働きに

† Mating Pheromone Signal Transduction in Yeast.

Kenji IRIE and Kunihiro MATSUMOTO (Department of Molecular Biology, Faculty of Science, Nagoya University, Nagoya 464-01)

図1 接合因子シグナル伝達系による細胞応答

については明らかでない⁽⁴⁾。また γ サブユニットの脂肪酸付加に関与する遺伝子として *SGP2* が同定されており、この遺伝子が欠損すると接合因子シグナル伝達系は作動しない⁽⁶⁾。

4. G蛋白質の下流

高等動物の系においては、G蛋白質により cAMP, DG, IP₃ などのセカンドメッセンジャーを産生する増幅体が活性化される⁽⁶⁾。酵母の接合因子シグナル伝達系においては、G蛋白質により活性化される増幅体はまだ明らかになっていない。しかし、G蛋白質の下流で働く遺伝子として、*STE5*, *STE7*, *STE11*, *STE12*, *FUS3* が現在までに同定、解析されている。*STE5* 遺伝子はG蛋白質に最も近く、*STE7*, *STE11*, *FUS3* の上流で働くと考えられているが、その作用機構についてはまだ明らかになっていない。*STE7*, *STE11*, *FUS3* は、プロテインキナーゼをコードする⁽⁷⁻⁹⁾。*STE7* と相溶性の高い遺伝子が、分裂酵母、カビ、*Schizosaccharomyces pombe* などから分離されており、*STE7* キナーゼは広く種を超えて保存されていると思われる。*FUS3* キナーゼは *KSS1* キナーゼと重複した機能を持ち、両遺伝子が欠損した株ではシグナルの伝達が起こらない⁽¹⁰⁾。*FUS3* キナーゼと

KSS1 キナーゼは、分裂酵母の *spk1* キナーゼ⁽¹¹⁾、動物細胞の *MAP2* キナーゼと高い相同性を示し、*FUS3* キナーゼは接合因子によるシグナル伝達系の活性化に依存してチロシン残基がリン酸化される。この結果は、*MAP2* キナーゼの活性がセリン/スレオニンとチロシン残基のリン酸化により制御されていることを考えると興味深い⁽¹²⁾。*STE7*, *STE11*, *FUS3*, 3つのキナーゼの基質としては、 α 因子受容体 (*STE2*)、 $G\beta$ サブユニット (*STE4*)、*EST5*, *STE12*, *FAR1*, および *STE7*, *STE11* キナーゼ自身などが候補として考えられる。なお、*STE7* 自身のリン酸化は接合因子に依存して起こるのに対し、*STE11* 自身のリン酸化は構成的に起こっている。*STE7*, *STE11*, *FUS3* がシグナル伝達において、どのような順序で機能するかは興味あるところである。最近、*STE11*, *FUS3* の変異で、接合因子に非依存的にシグナル伝達系を活性化する変異が同定された。*ste7* 欠損変異が *STE11* の活性型変異を抑圧することから、*STE7* は *STE11* の下流で働くと考えられる。一方、*FUS3* の活性型変異を用いた二重変異株の解析から、これらの位置関係は単純な直線関係にならないようである。

5. STE 12 蛋白質と転写活性化

STE 12 蛋白質は、接合因子によって誘導される遺伝子の発現に直接関与する転写因子で、STE 2, STE 3 受容体, G蛋白質, STE 5, FUS 3 などの発現に必須である^(13,14). *ste 2*, *ste 4*, *ste 5*, *ste 7*, *ste 11* 欠損変異株において、STE 12 遺伝子を過剰発現させると遺伝子発現が誘導されることから、STE 12 は接合因子シグナル伝達系において、STE 7, STE 11 の下流で機能している⁽¹⁵⁾. したがって STE 12 の活性は、STE 7, STE 11 キナーゼによるリン酸化により、調節されていると考えられる.

6. 接合因子シグナル伝達系による G1 期での細胞増殖停止機構

先に述べたように、接合因子の存在下で酵母の増殖は、細胞周期の G1 期で停止する. この接合因子による増殖停止は、接合因子により活性化されたシグナル伝達経路が、G1 サイクリン/CDC 28 キナーゼを不活性化することにより起こる⁽¹⁶⁾. すなわち、酵母に接合因子が作用すると、G1 サイクリンの転写抑制と蛋白質レベルの低下が起きる. G1 サイクリンの不活性化に関与する遺伝子として、*FAR 1* と *FUS 3* が同定されており、*FAR 1* は G1 サイクリンをコードする 3 つの遺伝子のうち *CLN 2* の不活性化に⁽¹⁷⁾, *FUS 3* は *CLN 1*, *CLN 2* の転写抑制と *CLN 3* の蛋白質レベルでの不活性化に関与している⁽¹⁸⁾.

7. 増殖停止からの回復 (脱感作)

酵母細胞に接合因子が作用すると、増殖が細胞周期の G1 期で停止するが、その後増殖停止からの回復 (脱感作) が観察される. この脱感作には、いくつかの機構が働いている. まず、接合因子は相手型の細胞が分泌するプロテアーゼにより分解される⁽¹⁸⁾. また、接合因子受容体の C 末端を欠失した株においては、接合因子に対し超感受性になることから、接合因子受容体の C 末端部が脱感作に関与することが示されている^(19,20). さらに、癌遺伝子 *ras* の活性型変異である *ras^{val12}* 変異に相当する *GPA1^{val50}* 変異により脱感作が促進されることから、GTP 結合型の GPA 1 ($G\alpha$ サブユニット) が脱感作を促進するシグナルを伝達しており、その下流に CDC 28/*cdc 2* ファミリーに属する SGV 1 キナーゼが関与することが明らかになっている^(21,22). Cole と Reed は、接合因子が作用すると STE 4 ($G\beta$ サブユニット) がリン酸化され、そのリン酸化が脱感作に関与することを示した⁽²³⁾. また、*sst 2* 変異株は接合因子に対し超感受性を示

す⁽²⁴⁾が、この性質が *GPA 1* 遺伝子の過剰発現により抑圧されることから、1 つの可能性として SST 2 が、GPA 1 の GTP 型から GDP 型への変換を促進する因子ではないかと考えられている.

8. 接合因子シグナル伝達系に影響する動物細胞の遺伝子

酵母の接合因子シグナル伝達系を用いて、この系に影響する動物細胞の遺伝子を単離することにより、動物細胞における G 蛋白質およびサイクリン/キナーゼの活性を制御する因子を同定することが可能であろう. 最近、私達はこの仮定のもとに、接合因子超感受性 *sst 2* 変異を抑圧する遺伝子としてヒトプロテインキナーゼ C δ タイプを、また *SGV 1* の欠損変異を抑圧する遺伝子としてヒト免疫不全ウイルスの Tat 結合タンパクと類似の遺伝子を分離した⁽²⁵⁾. 今後これらの遺伝子の解析を通して、酵母と動物細胞における細胞増殖を制御するシグナル伝達機構が解明されることを期待したい.

- (1) S. Nomoto, N. Nakayama, K. Arai, and K. Matsumoto: *EMBO J.*, **9**, 691—696 (1990).
- (2) S. Stone, G. Cole, M. B. Lopes, M. Goebel, and S. I. Reed: *Genes Dev.*, **5**, 1969—1981 (1991).
- (3) A. M. Neiman, F. Chang, K. Komachi, and I. Herskowitz: *Cell. Reg.*, **1**, 391—401 (1990).
- (4) M. Ohtsubo, T. Yoshida, H. Seino, H. Nishitani, K. L. Clark, G. F. Jr. Sprage, M. Frasch, and T. Nishimoto: *EMBO J.*, **10**, 1265—1273 (1991).
- (5) N. Nakayama, K. Arai, and K. Matsumoto: *Mol. Cell. Biol.*, **8**, 5410—5416 (1988).
- (6) R. Iyengar and L. Birnbaumer eds.: *G Proteins*, Academic Press, New York, 1990, p. 651.
- (7) M. A. Teague, D. T. Chaleff, and B. Errede: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 7371—7375 (1986).
- (8) N. Rhodes, L. Connell, and B. Errede: *Genes Dev.*, **4**, 1862—1874 (1990).
- (9) E. A. Elion, P. L. Grisafi, and G. R. Fink: *Cell*, **60**, 649—664 (1990).
- (10) E. A. Elion, J. A. Brill, and G. R. Fink: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9392—9396 (1991).
- (11) T. Toda, M. Shimanuki, and M. Yanagida: *Genes Dev.*, **5**, 60—73 (1991).
- (12) T. G. Boulton, S. H. Nye, D. J. Robbins, N. Y. Ip, E. Radziejewska, S. Morgenbesser, R. A. DePinho, N. Panayotatos, M. H. Cobb,

- and G. D. Yancopoulos, *Cell*, **65**, 663—675 (1991).
- (13) J. W. Dolan, C. Kirkman, and S. Fields : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 5703—5707 (1989).
- (14) B. Errede and G. Ammerer : *Genes Dev.*, **3**, 1349—1361 (1989).
- (15) J. W. Dolan and S. Field : *Genes Dev.*, **4**, 492—502 (1990).
- (16) C. Wittenberg, K. Sugimoto, and S. I. Reed : *Cell*, **62**, 225—237 (1990).
- (17) F. Chang and I. Herskowitz : *Cell*, **63**, 99—1011 (1991).
- (18) S. Marcus, C. B. Xue, F. Neider, and J. M. Becker : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 1030—1039 (1991).
- (19) J. B. Konopka, D. D. Jenness, and L. H. Hartwell : *Cell*, **54**, 609—618 (1988).
- (20) J. E. Reneke, K. J. Blumer, W. E. Couchesne, and J. Thorner : *Cell*, **55**, 221—234 (1988).
- (21) I. Miyajima, K. Arai, and K. Matsumoto : *Mol. Cell. Biol.*, **9**, 2289—2297 (1989).
- (22) K. Irie, S. Nomoto, I. Miyajima, and K. Matsumoto : *Cell*, **65**, 785—795 (1991).
- (23) G. M. Cole and S. I. Reed : *Cell*, **64**, 703—716 (1991).
- (24) C. Dietzel and J. Kurjan : *Mol. Cell. Biol.*, **7**, 4169—4177 (1987).
- (25) H. Shibuya, K. Irie, J. Ninomiya-Tsuji, M. Goebel, T. Taniguchi, and K. Matsumoto : *Nature*, in press (1992).
-