

# S 期開始のメカニズムの解明

岸 努 日大工・生命

## 【緒論】

遺伝情報を安定に維持するためには、染色体の複製と分配の厳密な制御が不可欠である。染色体の複製は S 期に行われるが、通常 1 回の細胞周期で S 期は決められた時期に一度しか起きない。S 期開始の制御が正しく遂行されずに通常より早く S 期を開始する変異株は、染色体の欠損が高頻度で誘発する。また細胞の癌化の多くは、S 期開始の制御に関わる遺伝子機能の欠損が原因となっている。したがって、S 期開始のメカニズムの解明は、生物学的にも医学的にも重要である。

S 期開始を直接制御する因子として 3 つのタンパク質が明らかとなっている。まず S 期開始に必須のタンパク質で、標的タンパク質の分解をひき起こす Cdc4 (1)、S 期の進行を直接制御する S-Cdk (S 期サイクリン-サイクリン依存キナーゼ複合体で G1 後期に合成される) (2)、そして G1 期に発現し S-Cdk の活性を阻害する Sic1/p27 (3) である。しかしこれら 3 つのタンパク質による S 期開始制御機構は混沌としている。1994 年にモデル細胞である酵母において、*cdc4* 温度感受性変異株は制限温度において S 期を開始できずに致死性を示すが、*SIC1* を破壊した *cdc4 sic1* 二重変異株では S 期を開始できることが報告され (4)、Cdc4 による Sic1/p27 の分解が S 期開始に必須であることが提唱された (同様な結果はヒトにおいても示された)。しかしその後、Sic1/p27 の分解は必ずしも S 期開始には必須ではないことを示す結果も報告されている (5, 6)。Sic1/p27 の分解はリン酸化が必須であり、リン酸化部位であるセリン・スレオニン残基をアラニンに置換した Sic1/p27 は分解を受けずに安定化するが、こ

の安定化型 Sic1/p27 を発現する細胞は、ヒトにおいても酵母においても G1 期が長くなるものの S 期開始を遂行することができるという結果である。このように、S 期開始制御における Sic1/p27 の分解の重要性は相反する結果が報告されている。本研究は、このパラドックスの解決を目指して酵母を用いて研究を行った。

## 【方法】

Swi5 の安定性はパルス・チェース実験、および GFP との融合タンパク質を用いたタイムラプス・イメージングによって調べた。

*SWI5* 遺伝子への突然変異は、PrimeStar Max を用いた PCR 法により導入した。

## 【結果】

S 期開始制御における Cdc4 の標的タンパク質は Sic1/p27 以外に存在する可能性を検討した。すなわち、*cdc4* 温度感受性変異株が制限温度で致死性を示すのは、Sic1/p27 とタンパク質 X の分解ができないためと仮定した。すると X の機能としては、以下の二つのどちらかが考えられる。一つ目は、S 期サイクリンの合成を阻害する可能性である。すなわち、*cdc4* 温度感受性変異株では Sic1/p27 の分解ができないだけでなく、S-Cdk 自体ができないために S 期を開始できない可能性である。しかしこの可能性は否定できる。*cdc4* 温度感受性変異株でも S 期サイクリンは野生株と同様に発現するうえに、*cdc4 sic1* 二重変異株では S 期を開始できるという 1994 年に報告された結果を説明できない。

二つ目の可能性は、X が Sic1/p27 の発現を促

進する可能性である。この考えに従うと、*cdc4* 温度感受性変異株が致死性を示すのは、Sic1/p27 が安定化するだけでなく、発現量も著しく増大し、その結果 S-Cdk の発現が Sic1/p27 を超えられないためと説明できる。*cdc4 sic1* 二重変異株では S 期を開始できることと矛盾しないうえに、安定化型 Sic1/p27 を発現する細胞が生育可能であること、および G1 期が長くなることを説明できる。

すでに私は Cdc4 の標的タンパク質として Swi5 を明らかにしている (7) が、この Swi5 は Sic1/p27 の転写活性化因子であり、X の条件を満たしている。そこで S 期開始における Cdc4 の標的タンパク質は Sic1/p27 と Swi5 であるか検証した。

まず Cdc4 による分解を受けずに安定化する安定化型 Swi5 を作製した。Swi5 の分解はリン酸化に依存することをすでに報告している。したがって、そのリン酸化部位を同定し、その部位をアラニンに置換すれば、その変異型 Swi5 は安定化するはずである。フォスフォペプチドマッピングにより Swi5 は少なくとも 25 カ所のリン酸化部位が存在する。現時点で、これらのうちの数カ所は分解に必要であること、これらアラニンに置換すると Swi5 は安定化することを明らかにした。

次に安定化型 Swi5 と安定化型 Sic1/p27 を発現するプラスミドを作製し、酵母細胞を形質転換した。一方のみを発現する細胞は生育が可能であったが、両方を発現するプラスミドを用いた場合には形質転換体を得ることができなかった。

以上の結果は、S 期開始において Cdc4 は Sic1 の分解を制御するだけでなく、Swi5 の分解を介した Sic1 の発現も制御することを示す。Swi5 の分解は G1 初期に起こることから、Cdc4 は G1 初期における Swi5 の分解と G1 後期における Sic1 の分解の二段階で S 期開始を制御することを明らかにした。

#### 【参考文献】

- (1) Hartwell et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 66, 352-359 (1970)
- (2) Schwob et al. Genes Dev. 1160-1175 (1993)
- (3) Mendenhall. Science 259: 216-219 (1993)
- (4) Schwob et al. Cell 79: 233-244 (1994)
- (5) Malek et al. Nature 417: 323-327 (2001)
- (6) Cross et al. Genetics 176: 1541-1555 (2007)
- (7) Kishi et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 105: 14497-14502 (2008)

