

Title	The ste4+ gene, essential for sexual differentiation of Schizo-saccharomyces pombe, encodes a protein with a leucine zipper motif.
Author(s)	岡崎, 規理子
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37990">https://hdl.handle.net/11094/37990</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	おか きのり
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 10143 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 生理系専攻
学位論文名	<b>The <i>ste4</i><sup>+</sup> gene, essential for sexual differentiation of <i>Schizosaccharomyces pombe</i>, encodes a protein with a leucine zipper motif.</b> （分裂酵母の性分化に必須な <i>ste4</i> <sup>+</sup> 遺伝子は、ロイシンジッパーモチーフを持つ蛋白質をコードしている）
論文審査委員	(主査) 教授 岡山 博人 (副査) 教授 松代 愛三 教授 羽倉 明

## 論文内容の要旨

### （目 的）

分裂酵母における接合、胞子形成過程は高等動物の細胞分化に相当する。そこで、この過程を明らかにすることによって高等動物の細胞分化の機構の基本的骨格を解明する糸口を得たいと考えた。

分裂酵母には *h*<sup>+</sup> と *h*<sup>-</sup> の 2 つの性的接合型があり、窒素源等の栄養が枯渇すると増殖を G 1 期で停止し、互いに接合フェロモンを放出し、またそれに応答して接合する。接合子は減数分裂し、4 つの胞子を形成する。接合不能な変異は *ste* 変異とよばれる。これまでに分裂酵母の *ste* 変異株は 13 株単離されたがその遺伝子の多くは不明であった。*ste 4* 変異株は、接合、胞子形成が全く不能であるがそれ以外は正常な表現型を示す。接合、胞子形成過程の分子機構の解明の一端として、その情報伝達に必須な因子である *ste 4* 遺伝子を単離し、解析することを本研究の目的とした。

### （方法ならびに成績）

分裂酵母の *ste 4* 欠損株を宿主とした形質転換を行い、接合能を回復させる 3 個のゲノムクローンと 4 個の cDNA クローンを単離した。制限酵素地図よりそれらは全て同一の遺伝子と判明した。この遺伝子が *ste 4* 遺伝子そのものであることを遺伝子破壊により確かめた。得られたゲノム DNA と cDNA の双方の塩基配列を決定した。その結果 1 つのイントロンを含む 264 アミノ酸の ORF が見いだされた。予想される蛋白質は既知の *ste* 遺伝子産物とホモロジーはなく、ロイシンジッパー様構造を持つ *jun* とホモロジーのある新しいタイプの *ste* 遺伝子であることが分かった。しかし、*ste 4* 遺伝子産物には *fos* や *jun* などの転写因子にみられる塩基性 DNA 結合領域が認められなかった。このことから *ste 4* 蛋白質は恐らく二量体を形成するが、それ自身は DNA 結合蛋白質ではないことが示唆された。

ste 4 遺伝子の各部分に欠失やフレームシフト変異を持つ変異プラスミドを作製して ste 4 変異に対する相補能を調べ、相補活性を担う機能ドメインの同定を試みた。全ての変異プラスミドで相補活性が著しく減少し、活性にはロイシンジッパーを含む ste 4 蛋白質全体が必要と考えられた。

ste 4 の mRNA の発現は、接合の誘導条件である窒素源の枯渇によって数倍以上誘導された。この誘導は、窒素源枯渇によって誘導される性分化に必須な他の遺伝子群の発現に関わる転写因子 ste 11 に依存していた。しかし、窒素源存在下で ste 4 遺伝子を過剰発現させても接合や胞子形成が起きないことから、窒素源枯渇の情報は ste 4 の発現誘導だけで伝えられているのではないといえる。

ste 遺伝子群の構成するシグナル伝達経路上の ste 4 遺伝子の位置を調べるため、他の ste 変異株に ste 4 遺伝子を過剰発現させて接合の回復能を調べた。ste 1 から ste 9、及び ste 11 の各変異株、及び接合フェロモン受容体の変異株である mam 2 株に ste 4 遺伝子を導入したが、どの変異も相補しなかった。今のところ ste 4 の作用点は特定されていない。

ste 4 蛋白質は接合に不可欠にも関わらず、過剰発現すると逆に接合を30%程度に阻害した。この阻害は、ロイシンジッパーを保持しているが相補活性のない欠失プラスミドの過剰発現でも見られた。このことから ste 4 蛋白質は、他の蛋白質とのヘテロ二量体を形成して活性を持つことが予想された。

(総括)

分裂酵母の接合及び胞子形成に必須な遺伝子である ste 4 を単離した。ste 4 遺伝子の発現は接合の誘導条件である窒素源の枯渇で誘導を受ける。ste 4 遺伝子産物は中央部にロイシンジッパー構造を持つ新しいタイプの ste 遺伝子産物であった。ste 4 蛋白質は他の蛋白質とのヘテロ二量体として働いていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

分裂酵母の性分化は高等動物の細胞分化のよいモデルと考えられる。しかしながら、分裂酵母の接合胞子形成過程の分子的な機構はあまり解析されておらず、これに関わる遺伝子の一部がクローニングされたにすぎない。本研究は分裂酵母の接合胞子形成過程に必須な ste 4 遺伝子を、単離して解析したものである。ste 4 遺伝子は、二量体の形成を示唆する、ロイシンジッパー構造を持つ蛋白質をコードする新しいタイプの ste 遺伝子であることが判明した。本研究は分裂酵母の接合胞子形成過程の分子的な機構の解明に寄与し、新知見を与えた。よって、学位論文に値すると判断される。