

## 研究課題構想・概要

- 研究課題名 「Ca<sup>2+</sup>情報伝達経路の戦略的解析」
- 提案者名 「水沼 正樹」
- 所属機関名 「広島大学」

### 研究の目標・概要

#### 1. 目標

- 研究開始後1年目の目標: Ca<sup>2+</sup>応答欠損株の取得および分類分け
- 研究開始後2年目の目標: Ca<sup>2+</sup>シグナル発生・伝達経路の解析
- 研究開始後3年目の目標: Ca<sup>2+</sup>シグナル経路の全体像および生理的意義の解析

#### 2. 内容

出芽酵母のCa<sup>2+</sup>情報伝達経路による細胞形態および細胞周期制御機構とその生理的意義の解明

#### 3. 新規性・独創性

Ca<sup>2+</sup>情報伝達経路による細胞形態および細胞周期制御機構は、申請者らが世界に先駆けて発見し、報告したもので、本研究はその成果に基づいて展開するものである。

#### 4. 緊急性

Ca<sup>2+</sup>による細胞形態・細胞周期チェックポイント機構は、新規経路であり、緊急に解明すべき課題と考える。

#### 5. 他の競争的資金等には馴染まない理由

本研究のような基礎的研究は他の競争的資金の獲得が困難

### 諸外国の現状等

#### 1. 現状

細胞周期研究およびシグナル伝達研究は欧米でも生命科学の重要課題であり競争は熾烈である。しかし申請者らの発見したCa<sup>2+</sup>による制御機構はまだ手を付けられていない未知のものである。

#### 2. 我が国の水準

国内外に本機構を対象にした研究はなく、世界をリードしている。

### 研究の進展及び成果がもたらす利点

#### 1. 世界の水準との関係

生命科学分野で世界的レベルで大きなインパクトを与え、酵母を用いた研究成果は高等生物にもあてはまる生命現象の理解に大きく寄与する。

#### 2. 波及効果

研究成果は、重要課題の一つである細胞の癌化の理解など医薬分野にも重要な知見をもたらすと予想される。さらに成果の応用展開として、Ca<sup>2+</sup>シグナル経路に作用する生理活性物質の高効率探索系の構築に成功しているので、医薬開発にも貢献できる。

# Ca<sup>2+</sup>情報伝達経路の戦略的解析

(研究機関名)広島大学

(研究者氏名)水沼正樹

## 1. 研究の意義、目的、必要性

真核細胞において、細胞内Ca<sup>2+</sup>はシグナル伝達メディエーターとして、様々な重要な細胞機能の調節に関わっており、酵母からヒトに至るまで、高度に保存された機構が使われている。我々は、出芽酵母におけるカルシニューリン(Ca<sup>2+</sup>依存性プロテインホスファターゼ)の生理機能の解析から、Ca<sup>2+</sup>情報伝達経路が細胞周期のM期開始を阻害することを発見した。本経路は、細胞膜緊張などに応答して、G<sub>2</sub>期遅延を引き起こす新規チェックポイントとして機能することが示唆され、細胞の正しい増殖を保証するうえで、非常に重要と考えられる。細胞周期制御機構の解明は、今最も早急に解決しなければならない問題の一つであるヒトにおける細胞の癌化のメカニズムの理解に貢献できる。そこでCa<sup>2+</sup>情報伝達経路による細胞形態および細胞周期制御機構とその生理的意義の解明を目的に研究を行う。

## 2. 研究概要

本プロジェクトでは大きく2つのアプローチによりその全貌に迫る。

### ① Ca<sup>2+</sup>シグナルに応答出来なくなった変異株の取得と解析

Ca<sup>2+</sup>シグナルに応答出来なくなった変異株 *scz* 変異を相補する遺伝子のクローニングを行い、必須遺伝子に変異が生じた株を解析する。

### ② 酵母全遺伝子(非必須遺伝子)破壊ライブラリーを用いた Ca<sup>2+</sup>シグナル伝達に重要な遺伝子の同定

非必須全遺伝子破壊株セットをもつて Ca<sup>2+</sup>シグナル伝達に応答欠損を示す遺伝子を網羅的に同定する。さらに取得した遺伝子の機能を、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度調節系(1<sup>st</sup>スクリーニング)、細胞形態形成(2<sup>nd</sup>スクリーニング)および細胞周期制御機構(3<sup>rd</sup>スクリーニング)に分類する。

## 3. 研究目標

強力な遺伝的解析が可能な真核単細胞系・出芽酵母を真核生物のモデル系として用い、Ca<sup>2+</sup>シグナル情報伝達経路による細胞形態・細胞周期制御機構に注目し、本経路の全貌及びその生理的意義の解明を目指す。

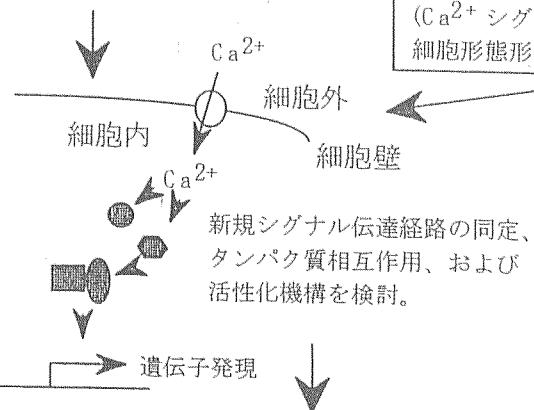
### (1) *scz*変異株の解析

(特に必須遺伝子)

*scz*変異を相補する遺伝子のクローニング

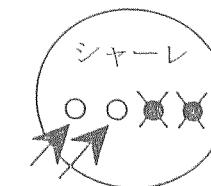
*SCZ*遺伝子の機能解析

遺伝子発現  
タンパク質発現



### (2) 酵母遺伝子破壊株セットを用いた

Ca<sup>2+</sup>耐性破壊株の取得と解析



Ca<sup>2+</sup>培地で増殖可能となった酵母の取得、遺伝子の同定

Ca<sup>2+</sup>耐性遺伝子の分類分け  
(Ca<sup>2+</sup>シグナルの発生、細胞形態形成、細胞周期)

Ca<sup>2+</sup>シグナル経路の全体像および生理的意義の解析

Ca<sup>2+</sup>シグナル経路に作用する物質の検索・作用機構の解明