

カエル卵無細胞系における細胞周期制御

東京工業大学大学院生命理工学研究科生命情報専 大隅圭太

両生類を含む多くの動物では、胚発生の初期に細胞数が急激に増加する。これは、初期胚の細胞周期が非常に速くサイクルするためである。例えばアフリカツメガエルの初期胚では、約30分毎に分裂期が起こる。また、胚発生に先立つ減数分裂期の卵母細胞では、2回の分裂期が連続して起こる。その結果、卵のゲノムは半数化される。このように、減数分裂期の卵母細胞および初期胚における細胞周期は、一般的な体細胞のものとは大きく異なっている。私たちは、こうした卵、初期胚に特異的な細胞周期の制御メカニズムを、カエル卵の細胞質抽出液を利用した無細胞系を用いて解析してきた。

受精の刺激によって胚発生を始めたばかりの卵を集め、チューブに詰めて遠心すると、細胞質抽出液が得られる。この卵抽出液では、初期胚と同様の細胞周期の進行が再現され、一定の時間間隔で分裂期が起こる (Murray & Kirschner, *Nature*, **339**, 275, 1989)。分裂期の開始と終了は、タンパク質リン酸化酵素Cdc2キナーゼの活性化と不活化によってもたらされるが (図1)、卵抽出液においても、分裂期の時期に一致して、周期的にCdc2キナーゼの活性化と不活化が起こる。私たちは、初期胚のCdc2キナーゼ活性がどのように調節されているか、また、それによって細胞周期がどのように制御されているかを明らかにするため、卵抽出液における細胞周期およびCdc2キナーゼの活性調節機構 (特に、Cdc2キナーゼの活性調節に決定的な役割を果たす、Cdc2タンパク質の抑制的リン酸化、および、Cdc2キナーゼの制御サブユニットであるサイクリンBタンパク質の分解の2点) が、Cdc2キナーゼの活性レベルによってどのように変動するかを定量的に解析した。

まず私たちは、卵抽出液のCdc2キナーゼ活性を定量的に制御できる系を確立した。この系を用いて、Cdc2キナーゼの活性レベルを連続的に変えたときの、卵抽出液の細胞周期を調べた結果、Cdc2キナーゼ活性があるレベル以上の時には分裂期、それ以下の時にはS期であり、中間的な状態が存在しないことが示された。この結果は、初期胚の細胞周期は分裂期とS期のみからなり、ギャップ期が存在しないことと一致する。次に、同様にして、Cdc2キナーゼの活性レベルとCdc2タンパク質の抑制的リン酸化の有無の関係を調べた。その結果、Cdc2キナーゼ活性があるレベル以上の時には抑制的リン酸化が起こらず、それ以下の時には完全に起こることが示された。また、

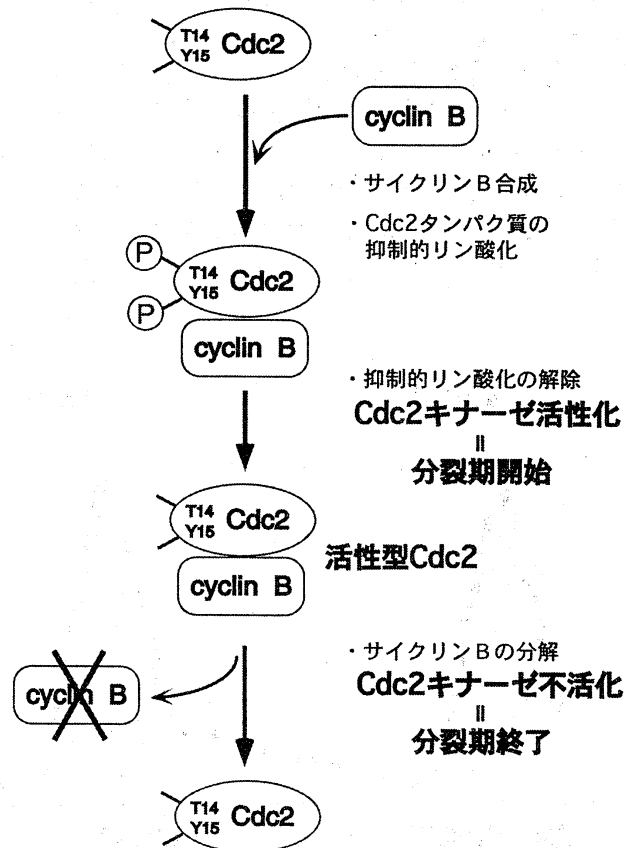


図1 Cdc2キナーゼの活性制御

サイクリンBの分解活性についても調べたところ、サイクリンBの分解も同様に、Cdc2キナーゼの活性があるレベル以上の時にのみフルに活性化され、それ以下だと不活性化されていることが示された。これらの結果を総合すると、カエル初期胚におけるCdc2キナーゼ活性の変動パターンと、それによってもたらされる細胞周期の進行がよく説明される(図2)。すなわち、サイクリンBタンパク質の合成量が閾値を越えると、Cdc2キナーゼの活性化が始まる。Cdc2キナーゼの活性がある程度上昇すると、抑制的リン酸化が解除されて、Cdc2キナーゼの活性化が急激に進んで、分裂期への移行が起こる。同時にサイクリンBの分解が活性化され、Cdc2キナーゼが不活性化がもたらされて分裂期が終了する。また、Cdc2キナーゼ活性がある程度低下すると、抑制的リン酸化が起こるようになり、引き続いてサイクリンBの蓄積が起こっても、Cdc2キナーゼ活性がすぐには上昇しない。このようにして生まれるCdc2キナーゼの周期的な活性化によって、一定間隔で分裂期が起こるのである。

さらに私たちは、減数分裂周期の進行を再現する卵母細胞の無細胞系を確立し、これを用いて、減数分裂周期における分裂期から分裂期への移行を可能にする条件を探った。分裂期の終了後に再び分裂期に移行するには、Cdc2キナーゼがいったん不活性化された後、速やかに再活性化されなければならない。そのためには、上記の初期胚におけるCdc2キナーゼの活性制御のしくみからすると、抑制的リン酸化が起こらなければよい。実際、減数分裂期の卵母細胞では、Cdc2タンパク質の抑制的リン酸化が起こっていないことが報告されている。従って、もし最初の減数分裂期が終了した時点で、本来起こらないはずの抑制的リン酸化が起これば、次の分裂期に移行する前にS期が誘起されると考えられる。この仮説に基づいて私たちは、最初の分裂期の終了時に、強制的にCdc2タンパク質の抑制的リン酸化を引き起こした。その結果、Cdc2キナーゼ活性の動態が初期胚型に変化し、これに伴って、実際にS期が誘起された。従って、減数分裂周期において2回の分裂期が続いて起こるのは、最初に分裂期終了後に、Cdc2タンパク質の抑制的リン酸化が起こらないために、Cdc2キナーゼの再活性化が速やかに起こってしまい、その結果、間期の時間がほとんどなくなってしまうためであることが明らかとなった。

以上のように、カエルの卵母細胞、初期胚における細胞周期の制御は、Cdc2キナーゼの活性レベルに厳密に依存してなされており、Cdc2キナーゼ活性の変動パターンは、いくつかのフィードバック制御の組み合わせで説明されることが明らかとなった。

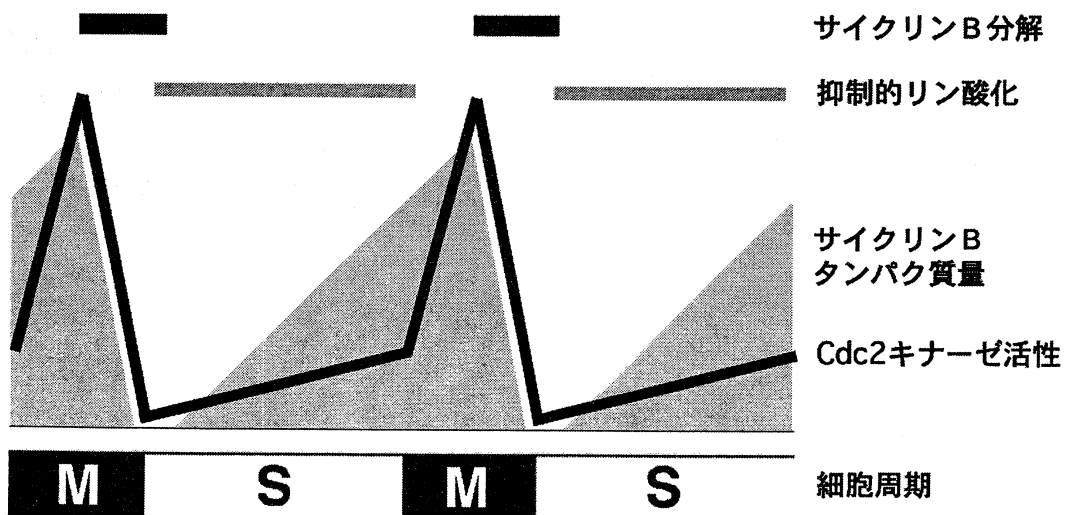


図2 Cdc2キナーゼの活性調節と細胞周期制御