

# ミネラルとビタミンの過不足による染色体動態への影響の検討

山田 貴富（管理栄養学科・准教授）

## 1 序論

### 1.1 栄養素としてのビタミンとミネラル

五大栄養素である糖質、タンパク質、脂質、ビタミン、ミネラルは、熱量素（主としてエネルギー源となるもの）、構成素（主として筋肉や内臓、骨格など体の構成成分となるもの）、調節素（主として生体内の化学反応を調節するもの）のいずれか、またはそれらの複数として機能し、ヒトの健康や生命維持を支える。例えば、糖質は熱量素としてのみ、脂質は熱量素と構成素の両者として機能するのに対し、タンパク質は熱量素、構成素、調節素全ての役割を持つ。以上は3大栄養素と称されるが、ビタミンは調節素として、ミネラルは調節素及び構成素として、ともに生命機能に必須の役割を果たす。いずれも体内での存在量が僅かであるために微量栄養素とされるが、その過不足は様々な過剰症・欠乏症の原因となるため、適切に摂取することが重要である。

#### 1.1.1 ビタミン

ビタミンは、「生物の生存・生育に必要なが体内で合成されないか、合成されても必要量に満たない有機化合物」と定義されるため、外因性物質の摂取が必須である。各種ビタミンの合成の可否は生物種によって異なるため、それらの種類も同様である（例えば、ビタミンCはヒトにとってはビタミンであるが、これを合成できるイヌなどにとってはビタミンではない；微生物とビタミン参照）。しかし、複数のビタミンは種を超えて共通であり、これはビタミンの機能が普遍的に重要であることを意味する。

ビタミンは水への溶解性の低い脂溶性ビタミンと高い水溶性ビタミンに大別される。ヒトの場合、脂溶性ビタミンとしてビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンKの4種類、水溶性ビタミンとしてビタミンB<sub>1</sub>、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸、パントテン酸、ナイアシン、ビオチン、ビタミンCの9種類が知られており、これらは様々な機能を持つ。例えば、ビタミンAとビタミンDはそれぞれの受容体に結合して転写制御因子を形成し、標的遺伝子の転写を制御する。また、ビタミンCとビタミンEはともに抗酸化ビタミンと呼ばれ、これらは協調して生体物質、特に脂質の酸化を防ぐ。さらに、多くのビタミンは酵素（生体内での化学反応を触媒するタンパク質）の活性を調節する補酵素として機能する。この例としてビタミンKは血液凝固因子の合成に関わる酵素の補酵素であることや葉酸を除くすべてのヒト水溶性ビタミンが三大栄養素の代謝に関わる酵素の補酵素であることなどが挙げられる。他の例として、ほとんどの水溶性ビタミンがアデノシン3リン酸（以下、ATP）の産生に関与する多くの酵素の補酵素であることも興味深い。すなわち、これらのビタミンはエネルギー産生という生命の根幹に関わる現象に寄与している。

前段落で述べたことから推察できるように、各種ビタミンの欠乏は様々な疾患、障害

の原因となる。本研究でも取り上げるナイアシンとパントテン酸の欠乏は、それぞれペラグラ皮膚炎と成長障害などを惹起する。その一方で、特に脂溶性ビタミンの一部を過剰に摂取した場合、過剰症が懸念されることがある。これは脂溶性ビタミンが体内に蓄積されやすいためであり、多量に摂取しても過剰量は尿中に排泄される水溶性ビタミンで過剰症の懸念が少ないことと対照的である。

### 1.1.2 微生物とビタミン

1.1.1で述べた通り、ビタミンの種類は生物種によって異なるが、とりわけ微生物とビタミンの関係には興味深い複数の特徴が見られる。これらは微生物がビタミンを合成したり、分解したりすることがあることや微生物にも増殖のために必要なビタミンが存在することなどに関連しており、本項ではそれらのいくつかについて説明する。

最もヒトに関連する点として、いくつかのビタミンがヒトの消化管内に存在する腸内細菌によって合成されることが挙げられる。具体的にはビタミンK、ビタミンB<sub>2</sub>、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸、パントテン酸、ビオチンなどである。腸内細菌による合成量はそれぞれのビタミンによって異なるが、特にビタミンKの摂取必要量は腸内細菌叢の状態に応じて異なることが知られている。例えば、抗生物質投与時は腸内細菌が大量に死滅するため、このビタミンが欠乏しないように留意しなければならない。また、新生児では腸内細菌叢の発達が不十分であるため、やはり外因性のビタミンKを適切に摂取することが必須である。

単細胞の真核微生物である酵母は複数の水溶性ビタミンを細胞内で合成、蓄積することができる。「酵母」とは実際には多くの生物種を含む総称であり、種によって蓄積するビタミンの種類も異なることがあるが、これらのビタミンを細胞内に蓄えることで生存や増殖に有利になることが考えられる。この点は産業的にも意義があり、酵母抽出物（イーストエキストラクト）はさまざまな食品に含まれたり、サプリメントに利用されたりしている。

### 1.1.3 ミネラル

ミネラルは人体の構成元素のうち炭素、水素、酸素、窒素を除く元素をいい、体内での存在量に応じて多量ミネラルと微量ミネラルに分類される。前者にはカルシウム、リン、マグネシウム、カリウム、ナトリウムが含まれ、骨や歯の構成成分として欠かせないだけでなく、細胞間の情報伝達や血圧の制御などに機能する。後者には鉄、亜鉛、銅、マンガン、クロム、ヨウ素、モリブデン、セレンなどが含まれ、これらは酵素タンパク質に結合してその活性を制御したり、ホルモンの構成成分になったりすることが多い。多量、微量を問わず全てのミネラルは生物には重要な成分であり、その過不足が様々な疾患の原因となることはビタミンと共通である。

ミネラルは元素であるため、必要な全量を食事から摂取、吸収する必要がある。従って、すべてのミネラルについてそれらの摂取、吸収不足は欠乏症の原因となりうる。

骨や歯などのない微生物にも生育に必要なビタミンが存在する。このため、適切なビタミンを培地（細胞を培養するために必要な栄養素を溶解したもの）に加えることは当該微生物の増殖のために必須である。しかし、個々のミネラルが微生物において果たす生物学的意義については未解明の点が多い。

## 1.2 細胞と染色体

全ての生物は細胞から構成されるが、細胞の基本的な営みは酵母のような単細胞微生物からヒトやイネのような多細胞動植物に至るまで共通であることが多い。特に遺伝情報である染色体 DNA を細胞小器官の一つである核の中に収容する真核生物の間ではその傾向が強く、様々な細胞小器官とそれらの機能、細胞分裂の概要はほとんどの真核生物で類似している。例えば、核のほか、エネルギー産生を担うミトコンドリアやタンパク質の修飾などを行うゴルジ体などの細胞小器官は種を超えて存在する。また、細胞が分裂する際の基本的な仕組みもほとんどの生物で共通である。むしろ、基礎的なメカニズムは最初に研究用の微生物（酵母など）において明らかになり、その後の研究により類似した機構がヒトを含む高等生物にも当てはまることが示された、という経緯がある。

体細胞分裂では一つの親細胞から（基本的には）全く同じ二つの娘細胞が形成され、細胞数が増える際におこる。この分裂の際、細胞は「細胞周期」と呼ばれる機構に従って秩序正しく体細胞分裂を繰り返し、増殖する。細胞周期は染色体 DNA を合成（複製）する S（synthesis）期、親細胞が2つの娘細胞に分裂する M（mitosis）期、S 期での DNA 合成の準備をする G<sub>1</sub>（gap）期、M 期の準備をする G<sub>2</sub>期の4つの段階からなる。G<sub>1</sub>期→S 期→G<sub>2</sub>期→M 期→G<sub>1</sub>期、、、と4つの段階を規則正しく繰り返すことにより、細胞が分裂して細胞数が増加する。なお、この過程の異常は細胞の不適切な細胞増殖、さらには細胞死や細胞癌化の原因となる。

一方、減数分裂は受精や接合に関わる配偶子（精子、卵子、孢子など）を産生するための細胞分裂である。配偶子は受精や接合に備えて染色体数を半減させる必要があるため、減数分裂では1回の DNA 合成の後に2回の分裂が連続して起こる。すなわち、G<sub>1</sub>期→S 期→G<sub>2</sub>期→M 期（第1分裂）→M 期（第2分裂）という経過を経て配偶子形成にいたる。

体細胞分裂、減数分裂の両者において、S 期での DNA 合成、M 期での染色体の分配、各段階・現象に必要な遺伝子発現（転写）など、遺伝情報の担体である染色体は動的に変化する。加えて、減数分裂の G<sub>2</sub>期には両親由来の染色体の再編成（減数分裂期組換えと呼ばれる）や空間的接近（対合と呼ばれる）といった現象も起こる。これらは全て種を超えてみられる普遍的な現象である。

## 1.3 ミネラル、ビタミンが染色体現象に及ぼす影響

1.1で述べたように、ビタミン、ミネラルともにヒトの生育、成長や健康に必須の役割を果たしている。その一方で、両栄養素は多くの生物において調節素として機能するのみならず、単細胞真核微生物においても生育に必須である。これは、ビタミンとミネラルが細胞レベルでは生物種を問わず普遍的な機能を果たしていることを示唆する。特に1.2で述べた染色体現象に注目すると、以下のような例が明らかになっている。

ナイアシンは遺伝子の転写発現や染色体構造の制御に関わる酵素の活性を調節する。また、パントテン酸が代謝されて産生される補酵素 A は染色体現象制御の重要官能基であるアセチル基の供給体としても機能する。しかし、ビタミンやミネラルが染色体現象に与える寄与には不明の点が多く、研究が十分に進んでいるとはいえない。



## 1.4 分裂酵母

基礎研究によく用いられる酵母として出芽酵母と分裂酵母が挙げられる。これらはいずれも多彩な研究解析系が整備されている上に、全ゲノム配列(染色体の全塩基配列の情報)が解明されていることから、様々な分野の基礎研究に頻用されている。出芽酵母の方が速く増殖し、実験が容易なことから転写や代謝の研究によく用いられてきた。また、清酒醸造の際に使われる一連の清酒酵母は研究用出芽酵母と非常に近縁である。一方、分裂酵母は進化的によりヒトに近く、高等真核生物に類似した染色体構造を持つことから、染色体関連現象の研究に盛んに用いられている。いずれの酵母もノーベル賞の対象となった研究でも用いられており、我が国の大隅良典博士は出芽酵母を用いたオートファジーの研究により2016年度ノーベル生理学・医学賞を受賞した。また、アメリカのリーランド＝ハートウェル博士は出芽酵母を用いて、イギリスのポール＝ナース博士を用いてともに1.2で述べた細胞周期の研究を行い、その業績に対して2001年度ノーベル生理学・医学賞が授けられた。

本研究では、申請者が過去から用いている分裂酵母を用いる。分裂酵母も生育にビタミンとミネラルを必要とし、培地はこれらを含む。ビタミンはビオチン、ナイアシン (Li et al. 2007)、パントテン酸、イノシトール (Voicu et al. 2002) の4種類である。前3者はヒトのビタミンでもあり、イノシトールも(体内で合成できることからビタミンに分類されないものの)ヒトでのビタミン様物質、広義のビタミンB群物質とされる。分裂酵母に必要なミネラルはホウ素、マンガン、亜鉛、鉄、モリブデン、ヨウ素、銅で、これらは全てヒトにおいても重要な栄養素である。

分裂酵母は栄養素が豊富な条件下では1倍体としても2倍体としても体細胞分裂により増殖する(図1、これはヒトなどと異なっており、ヒトの場合、個体を形成し、増殖する細胞のほとんどが父親由来の染色体と母親由来の染色体の2セットを持つ2倍体であり、1倍体は精子や卵子などのごく一部である。図では1倍体の細胞周期と減数分裂を示している)。しかし、培地中の窒素源が枯渇すると接合型(ヒトなどの場合の性別に相当する)の異なる1倍体同士で接合し、2倍体を形成した後に減数分裂を行い、1倍体の胞子を形成する。胞子は外界の栄養条件が改善すると通常の1倍体細胞に戻り体細胞分裂を行なって増殖する。

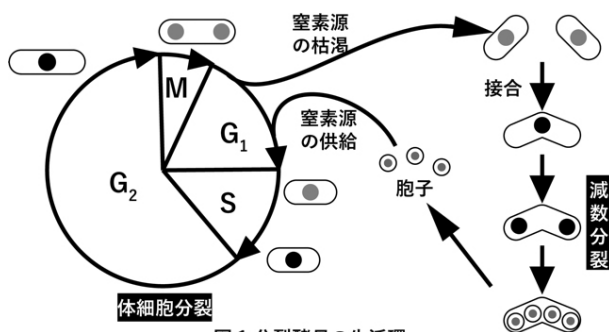


図1 分裂酵母の生活環

## 1.5 本研究の狙い

これまでのビタミンとミネラルの研究はヒトの健康に直結する過剰・欠乏症の観点から盛んに行われてきた。一方で、二つの栄養素は細胞機能に関与するという生物種を超えて保存されている特徴がある。後者について研究することは基礎生命科学の進展に大きく寄与すると考えられるだけでなく、ヒトの健康を目標とする栄養学、医学においても極めて重要な課題といえる。しかしながら、ビタミン・ミネラルの細胞の基本機能にはまだ解明

されていない点も多いと予想される。

このような状況において、申請者はビタミン・ミネラルの細胞機能における基本的な機能を明らかにしたいと考えた。特に、有用なモデル生物である分裂酵母に分子遺伝学・生化学の手法を用いて染色体関連現象の研究を専門としてきた経緯を踏まえ、分裂酵母においてビタミン・ミネラルが染色体の動態に及ぼす影響を調べる。これにより両栄養素の未知の機能を明らかにすること、および栄養学と染色体生物学の接点を創出することを目指す。

## 2 材料と方法

### 2.1 分裂酵母株と細胞培養、標準的な解析

本研究で用いた分裂酵母の栄養要求性のない標準株である1倍体分裂酵母細胞 ( $h^+$ または  $h^{90}$ )、2倍体分裂酵母細胞 ( $h^+/h^- ade 6-210/ade 6-216$ ) を用いた。

分裂酵母細胞の培養にはYES培地 (0.5 % Yeast extract, 3 % Glucose)、PM培地 (0.3 % Potassium hydrogen phthalate, 0.18 %  $Na_2HPO_4$ , 0.5 %  $NH_4Cl$ , 2 % Glucose, 5.2 mM  $MgCl_2$ , 0.1 mM  $CaCl_2$ , 0.013 mM  $KCl$ , 0.28 mM  $Na_2SO_4$ )、PMG培地 (0.3 % Potassium hydrogen phthalate, 0.22 %  $Na_2HPO_4$ , 0.375 % L-glutamic acid monosodium salt, 2 % Glucose, 5.2 mM  $MgCl_2$ , 0.1 mM  $CaCl_2$ , 0.013 mM  $KCl$ , 0.28 mM  $Na_2SO_4$ ) をベースとして、4種のビタミン (40.8  $\mu$ M ビオチン、81.2 mM ニコチン酸、4.2 mM パントテン酸、55.5 mM イノシトール)、ミネラル (80.9 mM ホウ酸、23.7 mM 硫酸マンガン、13.9 mM 硫酸亜鉛、7.4 mM 塩化鉄、2.47 mM モリブデン酸、6.02 mM ヨウ化カリウム、1.6 mM 硫酸銅、47.6 mM クエン酸) を必要に応じて添加したものをを用いた。寒天培地を作製する際には2 % 寒天を加えた。

接合と孢子形成の誘導にはSPA寒天培地 (0.1 %  $KH_2PO_4$ , 2 % Glucose, 3 % 寒天) をベースとして、4種のビタミン (40.8  $\mu$ M ビオチン、81.2 mM ニコチン酸、4.2 mM パントテン酸、55.5 mM イノシトール) を必要に応じて添加したものをを用いた。

DNA合成の進行はエタノールで固定した細胞をヨウ化プロピジウムで染色してフローサイトメトリーで解析することで観察した。また、核分裂は同じくエタノールで固定した細胞を4',6-diamidino-2-phenylindoleで核を染色して蛍光顕微鏡で観察することで解析した。

### 2.2 ビタミン、ミネラルの過不足が増殖に及ぼす影響の解析

通常濃度のビタミン、ミネラルを含むPMG液体培地中で増殖中の細胞を、ビタミン濃度、ミネラル濃度の異なるPMG寒天培地中にスポットした。その後、2日間32℃で保温した後、写真を撮影した。

### 2.3 ビタミン非存在化での接合、孢子形成の解析

接合と孢子形成の誘導には、必要に応じてビタミンを添加したSPA寒天培地に細胞をスポットして25℃で適切な日数、保温した。両過程は通常の光学顕微鏡による明視野法により観察し、接合率と孢子形成率を算出した (Kunitomo et al. 1995)。

### 3 結果と考察

#### 3.1 ビタミンとミネラルの過不足の増殖への影響

まず、ビタミンとミネラルの分裂酵母の増殖における寄与を調べるため、これらを欠く培地とこれらを過剰に含む条件での分裂酵母の生育を検討した。ビタミンとミネラルを含む PMG 液体培地中で増殖している分裂酵母の細胞懸濁液を通常の PMG 培地、ビタミン全てを欠く PMG 培地、ビタミン全てを通常の10倍濃度で含む PMG 培地、ミネラル全てを欠く PMG 培地、ミネラル全てを通常の10倍濃度で含む PMG 培地にスポットし、32℃で2日間培養した。その一部の結果を図2に示す。

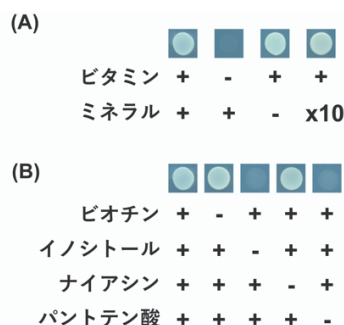


図2 ビタミンとミネラルの細胞増殖への寄与  
 ビタミン、ミネラルを通常濃度で含む PMG 培地で栄養増殖中の分裂酵母細胞を示した寒天培地上にスポットした。+ は当該栄養素を含有、- は非含有、x10 は通常の 10 倍濃度で含有、を示す。  
 (A) ビタミンまたはミネラルの欠如、ミネラルの過剰の影響  
 (B) 各種ビタミンの欠如の影響

ビタミンを欠く培地においては著しい増殖遅延が認められ、これによりビタミンが分裂酵母の増殖に必要であることが確認された(図2A)。一方で、結果には示さないが、10倍濃度のビタミンの存在下でも増殖への影響は見られなかった(data not shown)。この結果は、より感度の高い方法で検証する必要があるが、細胞内に高濃度のビタミンが存在しても細胞機能には影響を及ぼさない、細胞内のビタミン濃度は適切に保たれており培地中の過剰なビタミンの影響は少ないなどの可能性を示唆する。なお、実験の都合上、10倍より高濃度のビタミンを含む培地を作製することは困難である。

一方で、ミネラルを欠く培地では増殖遅延は見られなかった(図2A)。これは、細胞中にミネラルが蓄積されており、今回調べた2日間の培養期間ではミネラル欠乏は見られなかったためである可能性が考えられる。この点を検証するためには、より長期間での培養を行うことが有効である。また、今回の解析では通常の10倍濃度のミネラル存在下でも細胞の増殖に以上は見られなかった(図2A)。この結果も過剰量ビタミンについての上記の結果と同様により感度の高い定量的な方法で検証すべきである。加えて、より高濃度のミネラル存在下(例えば、通常濃度の100倍など)での実験も可能であるため、更なる検証が必要かつ可能である。いずれの場合でも過剰量のミネラルに対する耐性が見られた場合は、先に述べたビタミンと同様に、細胞外からのミネラル取り込み量や細胞内でのミネラル量に関する制御機構が存在する可能性が考えられる。

図2Aの結果を受け、特にどのビタミンの欠如が増殖遅延の原因となるかを検討した(図2B)。図2Aと同様の解析を行なったところ、特にイノシトールまたはパントテン酸の非存在下ではほとんど細胞が増殖しないことが明らかになった。また、さらに詳細に調べたところ、ビオチンまたはナイアシンの非存在下でも細胞増殖の遅延が認められた(data not shown)。以上から、4種類のビタミン全てが分裂酵母の生育を促進し、中でもイノシトールとパントテン酸が重要な働きを持つことが明らかになった。なお、分裂酵母



の増殖にパントテン酸は必要ない、という既報 (Stolz et al. 2004 ; Nakamura et al. 2012) もある。前者の文献については用いている培地が異なるため本研究の方がより厳密にパントテン酸の欠如を議論できると思われるが、後者の報告については同じ培地を用いており、相違の原因は現時点で不明である。今後の重要検討課題といえる。

### 3.1 G<sub>1</sub>期細胞の細胞周期再開へのビタミンの寄与

細胞周期制御におけるビタミンの影響を調べるため、*h*<sup>+</sup>株を用いて DNA 合成の前後の現象を調べた。解析を容易にするため、体細胞分裂を繰り返して増殖している分裂酵母細胞の培養液中 (通常、分裂酵母では G<sub>2</sub>期の時間が長いため、G<sub>2</sub>期の細胞が全体の 7 割程度を占める) から窒素源を除去することで増殖を停止させ、G<sub>1</sub>期の細胞を濃縮した (この過程にはビタミンの寄与は認められなかった)。その後、窒素源を含む新鮮な培地に細胞を移し (培地交換)、増殖を再開させた。交換後の培地として、4 種類のビタミン全てを含むもの、4 種類のいずれか一つを除去したものの 5 種類を用い、それぞれのビタミンの寄与を検討した。その結果、全てのビタミンを含む培地、ナイアシンを欠く培地、ビオチンを欠く培地に移された細胞に比べると、パントテン酸を欠く培地とイノシトールを欠く培地に移された細胞では、DNA 合成に遅延が認められた。しかし、いずれの場合とも、培地交換 5 時間後までには DNA 合成が終了し、ほとんどの細胞が G<sub>2</sub>期に移行していた (data not shown)。従って、増殖開始後最初の DNA 合成にはいずれのビタミンも必要でないことがわかった。これは DNA 合成にはこれらのビタミンが必要ない可能性や、必要であっても細胞内に残存した量で十分である可能性を示唆する。しかしながら、パントテン酸を欠く培地とイノシトールを欠く培地に置かれた細胞は、続く核分裂を行うことができず、1 核の状態では停止していた。ビオチンまたはナイアシンを欠く培地上の細胞は、少なくとも最初の核分裂は完了していた。従って、パントテン酸とイノシトールは核分裂に非常に重要な働きを持つことが示唆された。

なお、予備的な結果では、培地交換 5 時間後の時点で、パントテン酸を欠く培地とイノシトールを欠く培地に移された細胞は、他の 3 種の培地に移された細胞よりも細胞長が短かった。この結果は、イノシトールとパントテン酸は細胞周期再開後の DNA 合成には必須でないものの、細胞の成長に必要である可能性を示唆する。核分裂には十分な細胞の大きさが確保されていることが重要であるため、二つの異常は互いに関連しているのかもしれない。

### 3.2 接合と孢子形成へのビタミンの寄与

各種ビタミンが減数分裂時の DNA 関連現象に及ぼす影響を検討する手がかりとするため、接合と孢子形成への寄与を調べた。このため *h*<sup>90</sup>株を、4 種類のビタミン全てを含む SPA 寒天培地、4 種類のいずれか一つを除去した寒天培地の計 5 種類に播種した。30℃で 2 日間、保温した後、光学顕微鏡下で観察して接合率を計測した。その結果、ナイアシンがない場合でも全ビタミン存在下と同様の接合率が計測された。また、ビオチン非存在下では、ビタミン存在下、ナイアシン非存在下の場合より有意に低下したものの、やはり高効率での接合が見られた。しかしながら、パントテン酸またはイノシトールの非存在下ではまったく接合が見られず (図 3)、パントテン酸やイノシトールは接合に必須の働きを持

つ可能性が考えられた。イノシトールについてのこの結果は、既報と一致しており、イノシトールの接合における重要性が確認されたといえる (Voicu et al. 2002)。一方で、パントテン酸が同様の特徴を持つことについては申請者の知る限り新規の知見である。

続いて、孢子形成への各種ビタミンの関与を調べた。このため、全ビタミン存在下での接合により得た2倍体細胞 ( $h^+/h^- ade 6-210/216$ ) を安定に培養し、これを4種類のビタミン全てを含む SPA 寒天培地、4種類のいずれ

か一つを除去した寒天培地の計5種類に播種した。30℃で2日間、保温した後、光学顕微鏡下で観察して孢子形成率を計測した。その結果、すべてのビタミンを含む培地、ナイアシンを欠く培地、ビオチンを欠く培地の3つの場合は80%程度の孢子形成率が認められた。対照的にパントテン酸またはイノシトールを欠く培地での孢子形成率は15%程度にとどまった(図3)。これらの結果は、パントテン酸とイノシトールは接合の過程に加え、接合後の孢子形成(減数分裂)の過程にも重要であることを示している。既報では、イノシトールは接合後の減数分裂の過程には不要とされていた (Voicu et al. 2002)。しかし、今回の結果は、この既報での知見に再考を迫るものであるとともに、パントテン酸についての新規知見を提供するものである。

ただし、パントテン酸とイノシトールが孢子形成に重要であるという結果は、3.1で述べた DNA 合成完了後の核分裂に必要という両ビタミンの特徴を踏まえる必要がある。これは、孢子形成が  $G_1$  期から開始され、DNA 合成した後に2回の核分裂が起こる過程であるためである。すなわち、ビタミンの欠如が核分裂を阻害したために孢子形成に異常をきたした可能性があり、孢子形成という有性生殖や細胞分化に特異的なビタミンの役割を示唆するものではない可能性も踏まえて今後の検討をすることが必要である。

#### 4 今後の展望と計画

これまでに得た結果をもとにした論文を執筆中であり、早急に国際誌に投稿する。まず、パントテン酸とイノシトールが細胞増殖において果たす役割について成果をまとめる。先にも述べたが、本研究で得られたいくつかの知見は既報と異なるものであった。申請者の実験での再現性は確認しているが相違点の原因を究明することも重要である。以下、それぞれの詳細を説明する。

##### 4.1 核分裂におけるパントテン酸とイノシトールの機能の解析

現段階ではパントテン酸とイノシトールの(1)  $G_1$  期での細胞周期を停止した細胞の、細胞周期再開後の成長、(2)接合、(3)孢子形成の3つにおける重要性を示唆する結果が得られている。現在、二つのビタミンがどのように上記の3つの現象(特に(1))に関与してい

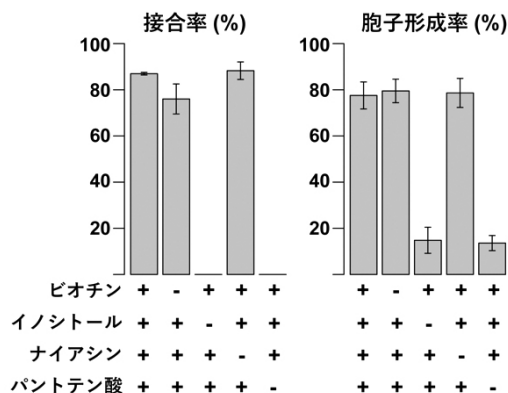


図3 ビタミンの接合と孢子形成における寄与  
各種ビタミンの存在下(+)と非存在下(-)で1倍体細胞間での接合率と2倍体細胞における孢子形成率を測定した。結果は3回の独立な実験の平均値とそれらの間の標準偏差として示している。



るかを明らかにするべく解析を行なっている。分裂酵母にはさまざまな変異体が取得されているので、パントテン酸非存在下、イノシトール非存在下と同様の異常を示す変異体やについて、解析を行なっている。現段階で、細胞周期制御に異常をきたす変異体一つについて、パントテン酸またはイノシトールの非存在下においても核分裂を完了するという予備的結果を得ている。同様の変異体をさらに多く取得し、これらを包括的に解析することで両ビタミンの核分裂における機能を明らかにできると期待される。

#### 4.2 パントテン酸とナイアシンの未知機能の解析

本研究では、ともにエネルギー産生に重要な役割を果たすパントテン酸とナイアシンは対照的な結果を示した。すなわち、本研究で調べた複数の事象について前者の欠如は異常を示したが、後者の欠如は示さなかった。これは以下の可能性を示唆するものといえる。

- ・当該現象は、エネルギー産生とは異なる面において、パントテン酸を必要とするがナイアシンは必要としない可能性
- ・パントテン酸とナイアシンは、細胞内での必要量や半減期で異なる特徴を持つ可能性

これらの検討は、二つの水溶性ビタミンが持つ新規機能の解明に発展しうするため、今後の重要な課題である。特に前者については、パントテン酸を欠く培地にATPを添加してもやはり核分裂は起こらないという予備的結果を得ている。これはATP産生とは異なるパントテン酸の機能が核分裂に寄与するということを示唆しており、栄養学的にも興味深い可能性であると考えている。

#### 4.3 ミネラルの過剰、欠乏が細胞の増殖に及ぼす影響の解析

本研究では、ミネラルを欠く培地、通常の10倍濃度で添加した培地のいずれにおいても顕著な増殖阻害は見られなかった。ミネラルの欠乏については、これが細胞増殖に何の影響も及ぼさないことは考えにくいいため、より長期間にわたっての詳細の解析が必要となる。また過剰についても確たる結論を得るには更なる解析が必要であり、過剰と欠乏の両面での検証を今後継続する。

### 5 引用文献

- Kunitomo H., Sugimoto A., Wilkinson C. R. M., and Yamamoto M. : *Schizosaccharomyces pombe* *pac 2<sup>+</sup>* controls the onset of sexual development via a pathway independent of the cAMP cascade **Current Genetics** vol. 28 pp.32–38, 1995
- Li Y.-F. , Bao W.-G. : Why do some yeast species require niacin for growth? Different modes of NAD synthesis **FEMS Yeast Res.** vol.7 pp. 657–64 2007
- Nakamura T., Pluskal T., Nakaseko Y., and Yanagida M. : Impaired coenzyme A synthesis in fission yeast causes defective mitosis, quiescence–exit failure, histone hypoacetylation and fragile DNA **Open Biol.** doi : 10.1098/rsob.120117. 2012
- Stolz J., Caspari T., Carr A., and Sauer N. : Cell division defects of *Schizosaccharomyces pombe* *liz 1*– mutants are caused by defects in pantothenate uptake **Eukaryotic Cell.** vol. 3 pp.406–412 doi : 10.1128/EC.3.2.406–412.2004.
- Voicu P. M., Poitelea M., Schweingruber M. E., and Rusu M. : Inositol is specifically involved in

the sexual program of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Arch. Microbiol.* vol.177 pp.251–8, 2002

Yamada S., Ohta K., and Yamada T. : Acetylated Histone H3K9 is associated with meiotic recombination hotspots, and plays a role in recombination redundantly with other factors including the H3K4 methylase Set 1 in fission yeast. *Nucleic Acids Research* vol.41 pp.3504–3517, 2013

日本人の食事摂取基準（2020年版）：厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会

## 謝辞

本研究を行う際、中央大学理工学部生命科学科のフローサイトメトリーと蛍光顕微鏡を使わせて頂きました。この場を借りて御礼申し上げます。一部の実験を一緒に行った鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科2024年度4年生の池村清美さん、小泉佑莉さん、高野寛乃さん、高橋美月さん、田中芽衣さん、本多朱璃さん、武藤萌夏さん、結果について議論をしてくださっている山本歩教授(静岡大学)、フローサイトメトリーの使用法を教えてくださいました小菅清二教育技術員（中央大学）に感謝申し上げます。