

申請者	学科名	栄養学科	職名	准教授	氏名	田中 晃一
調査研究課題	出芽酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の酢酸耐性化における細胞内グリセロールの役割					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表 分担者					
調査研究実績の概要	<p>食料と競合しないセルロース系バイオマスを原料としたバイオエタノールの生産では、糖化处理に莫大なコストがかかることと、糖化液に酢酸を主とする発酵阻害物質が混在することが非常に大きな問題である。私は酵母に酢酸ストレス耐性を持たせることで、この問題を解決しようとしている。「酢酸耐性酵母」であれば、糖化液から酢酸を除去する必要が無いばかりか、酢酸が持つ強い抗菌作用を活かして培地の滅菌という高コスト工程も省くことができるため、バイオエタノールの製造を大幅に効率化できる。そのような酢酸耐性酵母を育種する方法として、転写因子をコードする <i>HAA1</i> 遺伝子の発現を強化して酢酸ストレス耐性を付与する技術を開発した。この方法を用いれば、様々な酵母に対して速やかかつ簡便に、極めて強い酢酸耐性を付与することができる。しかし、育種された酵母の形質が安定しないという大きな欠点があった。この欠点を克服するには、<i>HAA1</i> 遺伝子による酢酸耐性化の分子機序を明らかにする必要があると考えた。予備的な実験で、酵母は酢酸ストレスに应答して細胞内にグリセロールを蓄積することを見いだしたため（図 1）、本研究課題では細胞内グリセロールと酢酸ストレス耐性との関係を分子レベルで解明することを目的とした。</p>					

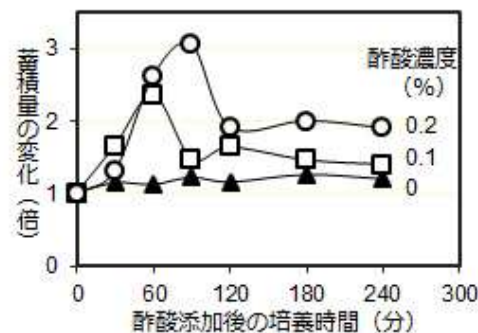


図 1 細胞内のグリセロール量の変動

調査研究実績
の概要

酢酸ストレスと細胞内グリセロールとの関係を明らかにする目的で、グリセロール合成欠損株と過剰合成株を作成して酢酸に対する感受性を調べた。その結果、合成欠損株は酢酸感受性、過剰合成株は酢酸耐性を示したことから、細胞内グリセロールの蓄積は酢酸耐性に不可欠であることが示された。また、*HAA1*遺伝子破壊株に酢酸ストレスを与えてもグリセロール蓄積は誘導されず、酢酸を含まない通常培地で培養した*HAA1*遺伝子過剰発現株の細胞内には多量のグリセロールが検出されたことから、酢酸ストレスで誘導されるグリセロール蓄積は*HAA1*による制御を受けていることが示唆された(図2)。次に、*HAA1*がどのようにして細胞内にグリセロールを蓄積させるかについて調べたところ、2つの異なるメカニズムが明らかとなった。1つ目は、酢酸ストレスにより活性化された*HAA1*がグリセロール合成酵素遺伝子の1つである*GPP2*遺伝子の転写を誘導し、グリセロールの生合成を活性化する機構である。2つ目は、酢酸ストレスに反応して、*HAA1*がグリセロール排出チャネルであるFps1タンパク質を分解し、細胞内から細胞外へのグリセロール輸送を抑制するという仕組みが見いだされた。*HAA1*がこれら2つのメカニズムを介して細胞内グリセロールの濃度を増加させることが、酵母の酢酸ストレス耐性獲得に重要であることが明らかとなった(図3)。グリセロールがどのようにして酢酸耐性を付与しているのかについてはまだ想像の域を出ない。一つの可能性としては、グリセロールの保護作用によって細胞内の様々な酵素やタンパク質が酸による変性から守られることが考えられる。別の考え方としては、細胞内にグリセロールが増えることで浸透圧が上昇すると、細胞外から酢酸が浸透しにくくなる可能性も挙げられる。今後、さらに解析を進め、酢酸耐性を安定して酵母に付与することができる新しい育種技術の開発に繋げていきたい。

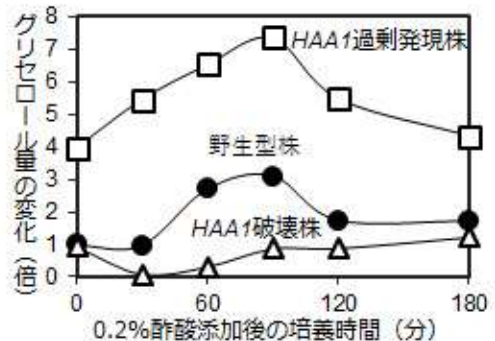


図2 *HAA1*はグリセロール蓄積に関与する

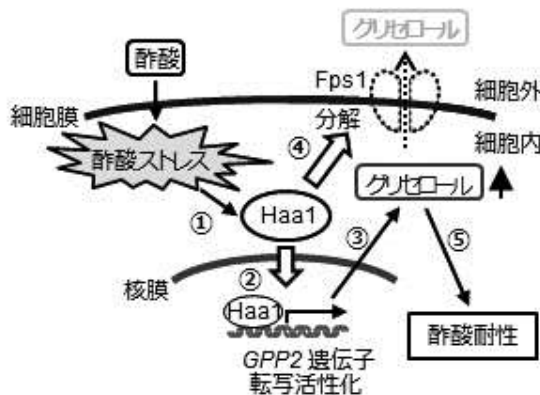


図3 酵母の酢酸ストレス応答機構

- ① 酢酸ストレスがHaa1を活性化
- ② Haa1が*GPP2*遺伝子の転写を活性化
- ③ グリセロール合成酵素Gpp2が増加し、グリセロールの生合成が活性化
- ④ Haa1がFps1の分解を誘導し、グリセロールが細胞外へ漏れ出すことを防ぐ
- ⑤ 細胞内にグリセロールが蓄積し、酢酸耐性化

成果資料目録

1. A silkworm infection model to study the *Vibrio vulnificus* virulence genes
Mai Yamamoto, Takashige Kashimoto, Yukihiro Yoshimura, Nao Tachibana, Shiho Kuroda, Yoshiko Miki, Sou Kitabayashi, Ping Tong, Jianbo Xiao, Koichi Tanaka*, Hiroshi Hamamoto, Kazuhisa Sekimizu, Koichiro Yamamoto *
Corresponding author
Molecular Medicine Reports, 2016, accepted for publication
2. バイオメディア「切れないハサミも使いよう」
田中晃一 日本生物工学会誌、2016年、印刷中

