

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* とは何か

—ゲノム全塩基配列解読の終了、しかし、それは謎解きへの第一歩—

福山大学工学部生物工学科 松崎浩明

生物学者のみならず生物を扱う者であれば、対象生物について、「どのような構造や機構を持ち、どんな活動をするのだろうか?」、「いかなる進化的歴史を辿ってきたのだろうか?」、「どのように改良・改変できるのだろうか?」などの疑問を抱いたことが一度はあるだろう。事実、多数の科学者がこの問題に取り組んでいる。生物はさまざまな遺伝子産物や代謝産物から構成され、ある産物は構造体となり、また、ある産物は単独で重要な機能を担う。さらに、複数の産物の機能が統合されて、DNA複製、RNA合成、細胞分裂、ストレス応答、形態形成などのさまざまな生物機構が働いたり、代謝系が構成される。このような静物が構築されるための情報がすべてゲノム塩基配列に基づいているとするならば、その配列をすべて読むことで、その生物の全情報を知ることができるはずである。この命題のもとに、最近さまざまな生物で、ゲノムの全塩基配列を解読するプロジェクトが進められている。このような状況の中で、何世紀も以前から醸造やパン製造に用いられてきた出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のゲノム全塩基配列の解読が1996年1月に終了した。^{1,2)} 全生物種の中では、惜しくも細菌 *Haemophilus influenzae*³⁾ と *Mycoplasma genitalium*⁴⁾ に数ヶ月遅れて3番目となったが、真核生物では最初である。1989年1月に当時のヨーロッパ共同体(EC)の複数の *S. cerevisiae* 研究グループが組織的な塩基配列決定のプロジェクトを設立し、⁵⁾ その後アメリカ、カナダ、日本(理研)の研究グループが参加し、約 1.2×10^7 bp のゲノムの配列決定を7年間で成し遂げた。7年を長いと感じるか、それとも短いと感じるかは人さまざまであろう。しかし配列決定のための特別な研究施設を設置せず、普通の研究室グループがシーケンシング領域を分担し、各グループの本来の研究と並行して行うことで成し遂げたのだからすごいと言わざるを得ない。さらに酵母の場合、遺伝子はオペロンを形成していないので、担当研究者の興味ある遺伝子が分担領域に集中して存在することはほとんどあり得ないから余計である。

S. cerevisiae ゲノムは、全長 12,052 kb (多コピーが連続して繰り返すリボソーム RNA 遺伝子、*CUP1* 遺伝子、*PMR2* 遺伝子はおおの2コピーとして計算) で、約 230 kb から 2,200 kb の16本の線状染色体として存在する。塩基配列から約6,200個の遺伝子(50コドン以上の大きさのオープン・リーディング・フレーム(ORF))が見いだされた。遺伝子は平均すると1,450 bp (483コドン) のORF、309 bp のプロモーター領域、163 bp のターミネーター領域から構成され、染色体上にはほとんど隙間なく並ぶ。さらに、イントロンを持つORFは233個と少なく、そのサイズも平均0.5 kb と小さい。*S. cerevisiae* のゲノムが高等生物に比べて非常にコンパクトであるのは、遺伝子数が少ないことに加えて遺伝子以外の無駄な領域がほとんどないことによる。

全ゲノム配列情報がはたして出芽酵母のすべてを明らかにしたかと言えば、答えはノーである。全遺伝子約6,200のうち65%のものについて何らかの機能情報が得られており、そのうち30%は直接的な実験結果から機能が決定され、残りの35%は既知遺伝子との相同性による推定である。今後、70%にあたる約4,300の遺伝子について実験で決定しなければならない。すでに遺伝子破壊による表現型、遺伝子発現、産物との相互作用物質、産物の細胞内局在などの幅広い解析から機能を推定し、さらに代謝系およびDNA複製、RNA合成、ストレス応答、細胞形態形成などのさまざまな生物機構における具体的な働きを決めるプロジェクトが共同研究体制で進められている。また、そのプロジェクトに参加していない研究者は各研究者の興味ある生物機構において機能遺伝子の探索と機能同定を行うことで機能情報を提供できるだろう。一方、全ゲノム配列情報データベースのおかげで、欲しい遺伝子は塩基配列に基づきPCR法でクローン化できる、遺伝子の同定は一部分の塩基配列を決定するだけで済む、知りたい遺伝子関連情報を全ゲノム遺伝子に対して検索できるなど、研究の効率と確実性が増した。しかし全遺伝子の機能解明は、特殊環境でのみ働くなどまったく予想困難な生物機能がある可能性もあり、まだかなりの年数がかかると思われる。将来、全遺伝子機能の解明は、外部環境刺激からの細胞内で起こる分子機構や細胞活動のシミュレーション、不要遺伝子の除去や新規遺伝子の付加による思い通りの機能を持つ生物の構築などを実現させるであろう。

塩基配列などのデータベースはインターネットを通じて *Saccharomyces* Genome Database (SGD) あるいは Martinsried Institute for Protein Sequences (MIPS) などの WWW⁶⁾ や FTP⁷⁾ で利用できるの、ぜひ一度アクセスされることをお勧めします。

1) Goffeau, A. et al.: *Science*, **274**, 546 (1996).

2) Oliver, S.: *Trends Genet.*, **12**, 241 (1996). この論文が掲載されている No. 7 は出芽酵母ゲノムシーケンスの特集号で他の論文も引用した。

3) Fleishmann, R. D. et al.: *Science*, **269**, 496 (1995).

- 4) Fraser, C. M. *et al.*: *Science*, **270**, 397 (1995).
- 5) Levy, J.: *Yeast*, **10**, 1689 (1994).
- 6) <SGD> <http://genome-www.stanford.edu/Saccharomyces/>
 <MIPS> <http://speedy.mips.biochem.mpg.de/mips/yeast/>
 <YPD> <http://www.proteome.com/YPDhome.html>
 <XREFdb> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/XREFdb/>
- 7) <ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/yeast/>
ftp://genome-ftp.stanford.edu/yeast/genome_seq

プラスチックをつくる酵素

理化学研究所 福居俊昭

現代社会ではプラスチックのない生活様式はもはや想像することもできない。大量の合成プラスチックが石油を原料として生産され、消費されているが、それにとまなう廃棄プラスチックの処理は環境・エネルギー問題の一つとしてこれから解決されなければならない課題の一つである。細菌がエネルギー貯蔵物質として糖・油脂などの再生可能資源から生合成するポリ [(R)-3-ヒドロキシアルカン酸] (PHA) は熱可塑性プラスチックであり、かつ生分解性であることから従来の合成プラスチックとは異なり、自然環境中の炭素サイクルに組み込まれ得る材料として有望視されている。¹⁾

その PHA 生合成の鍵酵素である PHA シンターゼは (R)-3-ヒドロキシアル CoA を基質として分子量数十万の水不溶性ポリエステルへと重合する興味深い酵素である。これまでに20種類以上の細菌から PHA シンターゼ遺伝子がクローニングされているものの、この酵素は菌体内に蓄積された PHA グラニュール表面に強く結合し、精製が非常に困難であることから重合反応の詳細は長く不明であった。Gerngross ら²⁾はポリ [(R)-3-ヒドロキシブタン酸] (P3HB) 生産菌である *Alcaligenes eutrophus* 由来 PHA シンターゼ遺伝子 (*phbC_{Ac}*) の 5'-末端を改変して *Escherichia coli* 内で大量発現させ、可溶性 PHA シンターゼを精製することに成功し、その諸性質解明および速度論的解析を可能にした。

これまでに、PHA シンターゼの2つのシステイン残基に3-ヒドロキシアル基とポリエステル鎖が結合し、3-ヒドロキシアル基の転位によってポリエステル鎖が伸長する反応機構モデルが提唱されている。³⁾ *A. eutrophus* PHA シンターゼでは変異酵素の作製から C319 が活性中心の一つと同定され、さらに *E. coli* 内では4'-ホスホペンテテイン酸による翻訳後修飾がなされていることも明らかとなった。脂肪酸合成酵素と同様に、4'-ホスホペンテテイン酸の SH 基がもう一つの活性中心であると推測されている。

また (R)-3-ヒドロキシブチリル CoA を基質とした活性測定では反応初期にラグタイムが生じることが見だされている。生成したグラニュールに結合した酵素は比活性が10-40倍に増大していることから、グラニュールの形成に伴って可溶性酵素から活性なグラニュール結合酵素へと変化する過程がラグタイムとして観察されると考えられた。⁴⁾ 可溶性 PHA シンターゼはモノマーとホモダイマーの平衡状態で存在しているが、最近、3HB オリゴマーアナログの CoA エステルを加えるとホモダイマーが増加し、ラグタイムが減少して比活性も増大することが報告された。⁵⁾ これはホモダイマーが活性型であるとともに、モノマーの二量化による活性化は重合反応のプライミングと関係することを示している。

精製 PHA シンターゼを用いて *in vitro* で重合された P(3HB) は分子量が 10×10^6 Da 以上と、*A. eutrophus* 内で蓄積された P(3HB) (分子量 $2-5 \times 10^5$ Da) よりもはるかに高分子量であった。さらに、大過剰の基質量では重合反応が完全に終結しないこと、およびこのとき生成した P(3HB) の分子量は減少していないことから、*in vitro* 重合系では連鎖移動反応は起きていないと結論された。⁴⁾ 細胞内での P(3HB) 蓄積の速度論的解析からはポリエステル連鎖の成長反応とともに連鎖移動反応が起こっていることが以前に示されている³⁾ が、この結果と一致していない。これは PHA 生合成にはまだまだ未知の因子が関わっていることを示唆している。

PHA シンターゼをはじめとする PHA 生合成系やグラニュール形成・分解機構の分子レベルでの理解により、分子量や組成がコントロールされた PHA の微生物による自在合成が可能となることを望みたい。

- 1) Doi, Y.: *Microbial Polyesters*, VCH Pub., New York (1990).
- 2) Gerngross, T. U. *et al.*: *Biochemistry*, **33**, 9311 (1994).
- 3) Kawaguchi, Y. and Doi, Y.: *Macromolecules*, **25**, 2324 (1992).
- 4) Gerngross, T. U. and Martin, D. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 6279 (1995).
- 5) Wodzinska, J. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 6319 (1996).