

高浸透圧応答の必要条件

古川健太郎

細胞は外界の浸透圧の変化に抗して恒常性を維持するための高浸透圧応答機構を備えている。大腸菌などの原核生物では浸透圧センサーが転写制御因子を直接制御し、高浸透圧応答遺伝子を誘導する。真核生物では複数の因子から構成される浸透圧センサー機構の下流に mitogen-activated protein kinase (MAPK) カスケードと呼ばれる酵母からヒトまで高度に保存されたシグナル伝達経路が存在しており、原核生物よりも遥かに複雑化している。真核生物の高浸透圧応答の研究は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* においてもっとも進展しており、高浸透圧応答 Hog1 MAPK 経路の構成因子や高浸透圧刺激における遺伝子発現制御機構などの多くが明らかにされている¹⁾。

酵母が高浸透圧刺激に曝されると、急激な脱水と細胞収縮が起こり、膨圧の変化などを感知した浸透圧センサー機構を引き金とする多段階のリン酸化反応によって Hog1 が活性化される。活性化型 Hog1 は細胞質から核に移行し、転写制御因子やクロマチン制御因子を高浸透圧応答遺伝子群へとリクルートし、わずか数分以内に数百に及ぶ遺伝子の発現を制御している²⁾。主要なものとして、グリセロール合成遺伝子が誘導され、細胞内にグリセロールが蓄積し細胞内外の浸透圧差をなくすことで高浸透圧環境に適応している。また、Hog1 は mRNA 翻訳・細胞周期の調節・ゲノムの安定性維持・細胞形態制御などさまざまな役割を果たしており、Hog1 欠損酵母は高浸透圧感受性を示す。しかしながら、Hog1 の標的遺伝子・タンパク質のすべてが実際に高浸透圧応答に必須なのであろうか？本稿では、このような疑問について遺伝子改変酵母を用いて検討した研究を二つ紹介したい。

Westfall らは Hog1 の C 末端領域に細胞膜局在ドメインを融合させることにより、高浸透圧刺激下でも核に移行しない Hog1 変異体を作製した³⁾。野生型 Hog1 の代わりに膜局在型 Hog1 を発現させたところ、野生型酵母と同程度の高浸透圧耐性能が見られた。この変異株においては高浸透圧刺激に応じた数百の遺伝子発現誘導は起こらないことから、Hog1 の核移行とそれに伴う遺伝子発現誘導は高浸透圧応答に必須ではないことが示された。この膜局在型 Hog1 変異株において Hog1 関連因子の重要性について検討したところ、Hog1 の活性化またはグリセロール合成に関与する遺伝子のみが高浸透圧応

答に必須だった。従って、Hog1 の高浸透圧環境下での必須な役割は、核内ではなく細胞質内で何らかの形でグリセロール合成に関与することと強く示唆される。

Babazadeh らは、Hog1 欠損酵母を宿主に高浸透圧応答を再構築するという手法によって、Hog1 の既知の機能のうち高浸透圧応答に必須であるものと必須ではないものを見いだした⁴⁾。Hog1 欠損酵母では性接合および偽菌糸形成に関与する Fus3/Kss1 MAPK 経路が高浸透圧刺激によって誤って活性化されることが知られている。このいわゆるクロストークの制御下に、本来は Hog1 依存的に誘導されるグリセロール合成遺伝子を 2 種類（グリセロール-3-リン酸デヒドロゲナーゼとグリセロール-3-ホスファターゼ）導入した。その結果、野生株ほどではないものの、遺伝子改変酵母は Fus3/Kss1 依存的に高浸透圧耐性を示し、高浸透圧刺激後のグリセロール蓄積や細胞収縮からの回復も確認された。また、従来は高浸透圧応答のために必須と考えられていた Hog1 の役割のうちのいくつか、たとえばグリセロールの細胞外への輸送に関与するアクアグリセロポリン Fps1 のゲート開閉調節などは必ずしも Hog1 に依存しないことが示された。以上の結果から、グリセロール合成が起これば Hog1 がなくとも高浸透圧応答が可能であり、Hog1 の必須な役割は従来の推測よりもきわめて限定的であると言える。

上記の二つの論文は方法論こそまったく異なるが、共通した結論は、酵母の高浸透圧応答にはグリセロール合成が必須であるということである。この事実は驚くことではないが、大規模な遺伝子発現誘導など Hog1 の必須ではない役割について明らかにされた点の方が重要だと言える。このようにシグナル伝達経路の構成因子の局在や標的遺伝子の発現様式を改変することは、遺伝子破壊や過剰発現などの従来の方法のみでは得られない知見をもたらす可能性を秘めている⁵⁾。また、シグナル伝達経路の挙動を自由自在に操作できれば、医療や生物工学の分野における応用も可能かもしれない。

- 1) Saito, H. *et al.*: *Genetics*, **192**, 289 (2012).
- 2) Rep, M. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **275**, 8290 (2000).
- 3) Westfall, P. J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 12212 (2008).
- 4) Babazadeh, R. *et al.*: *Sci. Rep.*, **4**, 4697 (2014).
- 5) Furukawa, K. *et al.*: *Mol. Microbiol.*, **88**, 5 (2013).