

3S-Cp05 スフィンゴ脂質を介した発酵微生物のコミュニケーション

○北垣 浩志
(佐賀大・農)
ktgkhrs@cc.saga-u.ac.jp

(1) 伝統発酵食品の製造における麹と他の発酵微生物の共存
日本の伝統発酵食品の多くは穀物と麹菌を穀物に繁殖させた麹、及びさまざまなその他の発酵微生物の相互作用により製造される。これまで麹は多くの発酵微生物が穀物由来資源の発酵を行うための「酵素の提供者」として主に見られてきた。しかし麹菌は酵素以外にもさまざまな物質を生産している。そこで麹菌が生理活性物質を生産し、他の発酵微生物に供与して他の発酵微生物の機能を改変しているとの仮説の元、麹菌の生産するスフィンゴ脂質に焦点を当てて研究を行った。

(2) スフィンゴ脂質分子構造決定手法の技術開発

スフィンゴ脂質はスフィンゴシン塩基に脂肪酸や糖、イノシトールリン脂質等をアミド結合、リン酸ジエステル結合、アセタール結合などさまざまな結合様式で結合した多様な分子種の総称である。これまではその多様性のために分析が困難であったが、機器の発達により効率的な分析が可能になりつつある。我々は tandem mass spectrometry とフラグメントイオン解析を組み合わせて未知のスフィンゴ脂質分子種の分子構造決定手法を開発し¹⁾、麹菌から酵母への glucosylceramide の移行を解析した。

(3) 麹菌のスフィンゴ脂質は発酵中に酵母に移行する

麹菌から酵母へのスフィンゴ脂質の移行を検証するため、*Aspergillus kawachii* で作製した麹と焼酎酵母を混ぜて発酵させ、酵母を遠心により分離して精製し、そのスフィンゴ脂質を解析した。その結果、本来酵母に存在しないはずの麹菌特異的 glucosylceramide (d19:2/C18:0h) を酵母の画分に見出した。この結果により麹菌から酵母に glucosylceramide が移行することが初めて明らかとなった。

(4) 麹の脂質は酵母に移行して生理機能を付与する

そこで脂質の麹菌から酵母へのスフィンゴ脂質の移行の生理的意義を探るために、麹から脂質を抽出し、酵母に添加してさまざまな発酵特性を調べたところ、麹の脂質を添加した酵母では pH8.0 における増殖能が増加していた。この結果から、麹菌の脂質が酵母に移行して生理機能を付与していると考えられた。酵母は glucosylceramide の生合成遺伝子をそのゲノムから失っており、麹菌と共生することで glucosylceramide を獲得していると考えられる。

これらの研究成果により、発酵食品の製造において、麹菌と酵母が共生することで麹菌から酵母に脂質が移行すること、そしてそれが酵母に生理機能を付与することが初めて明らかになった。この知見は他の発酵微生物にも適用できると考えられ、発酵における麹の新たな機能となると考えられる。

1) *J Agric Food Chem.* 60(46):11473-82 (2012).

3S-Da01 酵母が教えてくれるストレスマネジメント

○西沢 正文
(慶應大・医)
mas@z8.keio.jp

酵母細胞を取り巻く環境が中性～アルカリ側に変化すると、外界が弱酸性となることで形成される H⁺勾配が乱されるため、膜を通しての栄養源取り込みやイオンの交換ができなくなり、細胞は危機的状況に陥ってしまう。また、外界の pH 変化に対し、細胞質やオルガネラの pH (液胞内は弱酸性) を適性に保たないと細胞内輸送等の細胞機能も攪乱されてしまう。細胞壁合成にかかわる酵素もその機能が低下する。このような状況下で細胞周期が進行すると細胞死に直結するので、細胞周期進行を停止する必要がある。その間に酵母細胞は外部環境の pH を低下させるために、Pma1 のような細胞膜 H⁺-ATPase によって H⁺を排出する。このようなアルカリストレス応答機構について、我々の研究成果を中心に論じてみたい。

1. アルカリストレス応答に関わる転写因子

酵母細胞のアルカリストレス応答に重要な役割を果たしているのは Rim101 リプレッサーである。中性から弱アルカリ条件下での酵母細胞の生育には、液胞膜に存在する H⁺-ATPase と ENA1 がコードする Na⁺-ATPase が必須となる。rim101 欠失株では、アルカリストレス感受性が増大すると共に ENA1 の発現が低下するが、これは ENA1 の発現を抑制する Nrg1 の発現を Rim101 が抑制するためであるとわかった。ENA1 の発現制御には Ca²⁺-シグナル経路で機能する Crz1 も必要である。転写因子 Pho4 で活性化される PHO84 と PHO12 は弱アルカリ条件下で発現誘導され、また Pho4 欠失株はアルカリ感受性を示すことから、Pho4 の標的遺伝子の転写活性化もアルカリ応答に必要であると考えられる。Pho85 キナーゼは Pho4 をリン酸化してその転写活性化能を抑制するが、pho85 欠失株もアルカリ感受性を示す。pho85 pho4 の二重欠失株はアルカリ超感受性となることから、アルカリストレス応答過程において Pho4 が果たす役割は PHO system の活性化だけではないことが予想される。実際、Pho4 は Ptk2 発現を活性化し、Ptk2 は H⁺放出に重要な役割を果たしている細胞膜上の H⁺-ATPase である Pma1 を活性化することから、Pho4 がアルカリ条件下での Pma1 による H⁺放出に関与する可能性がある。

2. アルカリストレスと細胞周期制御

酵母細胞を pH8 に曝すと G1 サイクリンの一つである CLN2 の発現低下が観察され、Pho85 を欠失させるとその低下はさらに顕著になった。この機構を解析した結果、(1) Pho85-Pho80 がアルカリ条件下での CLN2 発現維持に必要であり、(2) アルカリストレスシグナルは、低リン酸シグナルと同様に Vip1 IP_κ キナーゼから Pho81 CKI を介して Pho85-Pho80 に伝えられること、(3) Pho85 の標的である Pho4、Rim101、Crz1 のどれを過剰発現させても CLN2 発現は低下し、(4) これら 3 種の転写因子をすべて欠失させてはじめて、Pho85 欠失時の CLN2 発現低下を抑圧することができた。アルカリストレス条件下で Pho85 の活性が抑えられると、通常の条件下では Pho85 によって抑制されているこれらの転写因子がそれぞれの標的遺伝子の発現を活性化あるいは抑制することでアルカリストレス応答を起こすと考えられる。

細胞外の pH を低下させることで細胞膜を介した H⁺勾配を回復しない限り酵母は生育できないので、アルカリ環境への適応とはすなわち、細胞の生育を止めている間に、アルカリ環境下での細胞の生存を維持しつつ環境を酸性条件に変える過程であるといえよう。このようなストレスマネジメントにおいて、細胞の様々なストレス応答過程が協調的に機能していると考えられる。

Intermicrobial communication through sphingolipids

○Hiroshi Kitagaki
(Fac. Agric., Saga Univ.)

Learning how to manage your stress from yeast life

○Masafumi Nishizawa
(Keio Univ. Sch. Med.)

Key words *Aspergillus kawachii*, shochu fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, lipid

Key words stress response, cell cycle, cyclins