

3S-Da04 分裂酵母の細胞溶解機構

○川向 誠

(島根大・生資)

kawamuka@life.shimane-u.ac.jp

分裂酵母で *ura4* 遺伝子を破壊し、かつポリペプトンを加えた培地で培養すると、分裂酵母は定常期に達すると突然溶解を始める。この細胞溶解が、非常に劇的で、顕著であるため、新発見につながることを期待し、そのメカニズムを探索的研究を開始した。

Ura4 タンパク質は *de novo* UMP 合成経路において最も下流に位置しており Orotidine-5-monophosphate (OMP) を脱炭酸反応により Uridine-5-monophosphate(UMP) を生産する OMP デカルボキシラーゼである。OMP デカルボキシラーゼは大腸菌からヒトまで幅広く保存されており様々な生物種において最終産物である UMP により *de novo* UMP 合成経路の上流にある酵素がアロステリック制御を受けることがわかっている。しかし、分裂酵母においてこの経路がどのように制御されているかは分かっていない。出芽酵母におけるオーソログは *URA3* であり分裂酵母 *Δura4* 株のウラシル要求性や細胞溶解は *URA3* の発現によって抑圧されることがわかっている。しかし、出芽酵母の *URA3* 変異株においては前述のような細胞溶解現象は起こらない。分裂酵母 *Δura4* 株の細胞溶解は、浸透圧調節剤であるソルビトールによって抑圧される。また、細胞壁の主要成分である β 1,3-グルカン分解酵素であるサイモリエースに感受性を示す。細胞溶解を抑圧する復帰変異株の原因遺伝子の同定を行うと原因遺伝子は *ura1* 遺伝子であり、Ura1 は本来の機能を欠失していることがわかった。*ura1* 遺伝子は *de novo* UMP 合成経路の上流の酵素をコードする遺伝子であるが、その下流の *ura2,3,5* の遺伝子をそれぞれ破壊することで *Δura4* 株の細胞溶解が抑圧された。

この細胞溶解現象は分裂酵母の生存戦略のメカニズムが働いたのではないかと考えている。つまり、定常期は培地中の栄養成分が枯渇している状態であるため、全部の酵母は生き残れない。その代わりに、一部の酵母が溶解することで細胞内の栄養成分を他の酵母に与えれば、集団として生き残ることができる。酵母が集団として生存するための戦略を内包しており、そのメカニズムがある条件のもとで、顕在化したのではないかと捉えている。言い換えれば、他種生物に対しては、利己的な生存戦略であると同時に、同種生物には、利他的な戦略であると考えている。

*Matsuo et al. PLoS ONE (2013)

3S-Da05 酵母におけるリン酸シグナル応答機構の進化—メタノール資化酵母の場合

○金子 嘉信

(阪大院・工・酵母リソース)

kaneko@bio.eng.osaka-u.ac.jp

リン酸は核酸およびリン脂質として重要な細胞構成要素であり、さらにエネルギー供給源の役割も果たし、生物には必須の化合物である。そのため、生物はリン酸恒常性のためにリン酸飢餓に応答する巧妙な遺伝子発現制御機構（以後、PHO システムと呼ぶ）を発達させている。パン酵母の PHO システムでは、CDK 阻害因子-サイクリン-サイクリン依存性プロテインキナーゼ (Pho81-Pho80-Pho85) 複合体によって転写活性化因子 Pho4 の核内局在が制御されて、酸性ホスファターゼ (AP) 遺伝子をはじめとするリン酸応答遺伝子の発現が転写段階で調節されている。約 1 億年前のゲノム倍加以後にパン酵母と分岐したと考えられている日和見感染酵母 *Candida glabrata* においてもほぼ同様な PHO システムが報告されている。一方、約 6 億年前に共通祖先から分岐したと考えられている分裂酵母では、Pho4 とは異なる Zn フィンガータイプの転写活性化因子 Pho7 と CDK 活性化キナーゼ活性化キナーゼ Csk1 が抑制因子として働く PHO システムが明らかとなっている。そして、分裂酵母には *PHO81*、*PHO2*、*PHO4* の相同遺伝子はなく、*PHO80* および *PHO85* に相同と思われる遺伝子はリン酸応答に関わっていない。我々は酵母における PHO システムの進化に興味を持ち、系統的にパン酵母と分裂酵母の中間に位置するメタノール資化酵母 *Hansenula polymorpha* の PHO システムについて解析を行っている。このメタノール資化酵母のゲノムサイズは 9.5 Mbp と酵母の中では小さく、1～2 Mbp の 6 本の染色体で構成されている。また、50℃ の高温でも生育可能で、リン酸飢餓ストレスだけでなく、高温ストレス応答における進化の点でも興味深い酵母である。

メタノール資化酵母のドラフトゲノム配列情報について、パン酵母の主要な PHO システム遺伝子を使用して BLAST 検索を行ったところ、その相同遺伝子候補が見つかった。最初に CDK 阻害因子である *PHO81* 相同遺伝子 (*HpPHO81*) の破壊を行い、AP 非生産性表現型を確認した。また、AP 構成性変異体の中に *HpPHO81* 優性構成性変異体も同定し、*HpPHO81* がパン酵母 *pho81* 変異を機能相補することも確認した。次に、*Hppho81* 変異体から AP 生産を回復する 3 つの抑圧変異 (*seo1*, *seo2*, *seo3*) 分離することができ、*SEO1* が *HpPHO80* であることがわかった。さらに *Hppho80* 構成性変異の抑圧変異体を分離したところ、*Hppho4* 変異体であった。これらの結果から、パン酵母とは系統的に離れたメタノール資化酵母でもその PHO システムは、パン酵母と同じ CDK 阻害因子-サイクリン-サイクリン依存性プロテインキナーゼ複合体と転写活性化因子から構成されるリン酸応答機構であると考えられる。

Cell lysis mechanism in fission yeast

○Makoto Kawamukai

(Fac. Life and Environ. Sci. Shimane Univ.)

Evolution of the phosphate signaling pathway in yeast - a case of methylotrophic yeast

○Yoshinobu Kaneko

(Yeast Genet. Resour. Lab, Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words Schizosaccharomyces pombe, Cell Lysis, polypepton, uracil auxotrophy**Key words** yeast, evolution, phosphate signaling