

クリプトコックスのカドミウム応答

東江昭夫

(千葉大学真菌医学研究センター)

カドミウムは環境汚染の原因となる毒性の強い金属元素である。細胞内に侵入したカドミウムに対処する仕組みは種々の生物で明らかにされてきたが、病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* (Cn) では不明である。Cn のカドミウムに対する応答について調べたところ、病原性の強い serotype A 株は一般に病原性の弱い serotype D 株より高い耐性を示した。カドミウム耐性と病原性との関係を明らかにするために Cn のカドミウムへの応答機構を遺伝的に調べた。

「結果」

1. 普遍的なカドミウム解毒経路は Cn でも働いている。細胞内に侵入したカドミウムを GSH に結合し、液胞に輸送して隔離する経路があり、いずれを欠損させてもカドミウムに感受性になった。
2. P-type ATPase (Pca1) がカドミウム排出に働くことを明らかにした。
3. Serotype D 株の野生型から分離されたカドミウム耐性変異の原因遺伝子を同定したところ、Mn トランスポーター遺伝子 *Nramp/SMF1* であった。
4. H99 株 (serotype A、臨床分離株、強毒性) のカドミウム耐性の原因は *SMF1* 内の変異であることがわかった。
5. 強毒性の臨床分離株 *C. gattii* R265 の *SMF1* も機能低下していた。
6. Serotype D 株及び A 株の *smf1* 破壊株は 37 度において野生型株より活発に増殖した。

「まとめと展望」

病原性の強い Cn では *Smf1* が機能低下している傾向があった。37 度における増殖能が病原因子の一つであることから、*SMF1* 破壊株の 37 度での増殖亢進は、*SMF1* の活性と病原性との間の関連性を示唆している。今後、動物モデルを用いてこの点を調べる予定である。

病原真菌 *Candida glabrata* におけるミトコンドリア選択的 オートファジーの生理的役割

名木稔

(国立感染症研究所 真菌部)

Candida glabrata は、日和見感染症であるカンジダ症の主要な原因菌であり、臓器移植や抗癌剤治療などによる宿主の免疫低下に伴って重篤な感染症を引き起こす。*C. glabrata* の生息する宿主体内環境には多量の鉄結合タンパク質が存在し、菌が利用することのできる遊離鉄の濃度は極めて低い。鉄欠乏応答機構が宿主体内での生育や病原性に重要であるとの仮説のもと、網羅的遺伝子発現解析を行った結果、*C. glabrata* では鉄欠乏条件においてミトコンドリア選択的オートファジー（マイトファジー）に必須な *ATG32* の発現量が増加することがわかった。

オートファジーとは、液胞を分解の場とする、細胞質成分の分解機構の総称である。真菌におけるオートファジーは出芽酵母を用いて盛んに研究され、そのメカニズムに関しては明らかにされつつあるものの、オートファジーの役割に関する研究はあまり進んでいない。*C. glabrata* において、鉄欠乏環境での生育や病原性におけるマイトファジーの役割を解明することを目的として研究を行った。

近縁種である *S. cerevisiae* の場合、窒素源飢餓条件においてマイトファジーが活性化することが知られている。*C. glabrata* の場合、窒素源飢餓条件ではマイトファジーは活性化しなかったが、鉄欠乏条件でマイトファジーが強く活性化することが明らかになった。*C. glabrata* において *ATG32* 遺伝子破壊株を作製し、マウス感染実験および感染臓器内における遺伝子発現解析を行ったところ、*ATG32* 破壊株は野生株と比較し、腎臓における生菌数が 10% 以下に低下しており、感染臓器内では *ATG32* の発現量が著明に増加していることが明らかとなった。また、鉄欠乏培地で数日間培養を行うと *ATG32* 破壊株の生存率が顕著に低下することが明らかになった。宿主体内のような鉄欠乏環境において *C. glabrata* のマイトファジーは活性化し、生存率の維持や病原性に関与しているのかもしれない。

【文献】 Nagi M et al. 2016. *Autophagy*. 2;12(8):1259–71.

油脂生産酵母の分子生物学的解析への挑戦

高山 優子

(帝京大学理工学部バイオサイエンス学科)

油脂生産酵母 (*Lipomyces starkeyi*) は、穀物と競合しないバイオ燃料として注目されている。油脂生産酵母は低栄養条件にすることで油脂の蓄積を誘導できることから、培養条件による油脂生産効率の向上を目指して多くの研究がなされている。近年、油脂生産酵母における遺伝子破壊技術が報告され、遺伝子レベルの解析が進んでいる。しかしながら、プラスミドによる遺伝子導入法や遺伝学的解析ツールがほとんどないため、複数の遺伝子変異の組み合わせや遺伝子導入による油脂生産向上を目指す方策を取ることができない。そこで、油脂生産酵母で使用可能な分子遺伝学的手法が確立されたならば、油脂生産酵母の研究推進に大きく寄与できるのではないかと考え研究を始めた。まず初めに、遺伝解析の根幹となる異性型酵母の単離同定を行った。異性型酵母の一方の親に薬剤耐性遺伝子を導入し、孢子分離解析を行ったところ、1つの子嚢内に存在する孢子の遺伝型は、ほぼ 1:1 となることが分かった。次に、遺伝子導入可能なプラスミド作成において、シャトルベクターの作出を試みた。薬剤耐性遺伝子を組み込んだベクターは、油脂生産酵母に形質転換可能であることがわかった。このベクターを元にゲノムライブラリーを作製し、油脂生産酵母細胞内で安定維持できるセントロメア型プラスミドの作成を目指している。セントロメア解析の一環として、油脂生産酵母のセントロメア特異的ヒストンバリエント CENP-A の同定と機能解析を行っており、合わせて発表したい。

エタノール発酵能の違いは種の違い？ ～南極産担子菌類酵母の全ゲノム解析による種の再検討～

辻 雅晴

(情報・システム研究機構 国立極地研究所)

日本の南極観測の拠点である昭和基地は冬季の気温が -40°C を下回る極限環境である。南極大陸に生息している菌類は、他の地域に生息している菌類と比べ、高い低温適応能を持っているため、この地域に生息している菌類が有している極限環境に適応するために獲得した酵素や生理的性質は、産業上重要な特徴である。

南極域からの菌類の報告は、1897年から1899年まで人類で初めて南極域で越冬したベルギーの探検隊による報告が初めてだと思われる (Boomer and Rousseau, 1900, *Royale des Sciences de Belgique Classe des Sciences*)。この報告以降、これまでに南極域全体では、400属、1200種を超える菌類が分離・報告されている。一般的に南極域の中でも特に環境の厳しい大陸性南極では、担子菌類の中でも生活環の一部を単細胞で過ごす担子菌酵母の出現頻度が高くなる。

担子菌酵母の1種である *Mrakia* 属菌は広義にはシロキクラゲの仲間とされている。*Mrakia* 属菌は大陸性南極では菌類の優先種であり、この地域では唯一エタノール発酵が可能な菌類である。これまでに南極大陸から報告されている全ての *Mrakia* 属菌が発酵能を有していることが知られている。

昭和基地から約60km離れたスカルプスネス露岩域では、*Mrakia* 属菌の中でも *Mrakia blollopis* という種の分離頻度が高い (Tsuji et al., 2013, *FEMS Microbiol Lett.*)。我々はスカルプスネス露岩域から分離した *M. blollopis* について低温での成長能やエタノール発酵について報告してきた (Tsuji et al, 2016, *Mycoscience* など)。その中で *M. blollopis* の中にはエタノール発酵能が高い系統と低い系統が存在していること、低温での成長能は個々のエタノール発酵能に密接に関連があること、さらにこれらの能力は ITS 領域を用いた系統解析により予想できることを発見した (Tsuji et al., 2015, *Cryobiology*)。このように *M. blollopis* には大きく特徴が異なる2つの系統が存在するが、両系統とも *M. blollopis* のタイプである CBS8921 株と ITS 領域では 99.5% 以上の相同性があることから、現在の分類の基準では同種となる。そこで、本講演では同種ではあるが大きく異なる特徴を持った *Mrakia blollopis* の2つの系統を例に全ゲノム解析による種の再検討についてお話ししたい。

乳酸菌が醸すワインの香り

高瀬秀樹

(メルシャン株式会社シャトー・メルシャン 技術課)

ワインの香味は、数百以上の揮発性化合物が複雑に関与して構成されている。これら化合物の中で、ワインの香り、特に品種特徴香に貢献する揮発性化合物としてモノテルペノイド、C13 ノルイソプレノイド、チオール化合物などが同定されている。特にチオール化合物は、官能閾値が顕著に低く、力価が高いため、ワインの香りを構成する重要な化合物である。代表的なチオール化合物としては、グレープフルーツ様の香気を呈する 3-sulfanylhexan-1-ol (3SH) が知られ、ソーヴィニヨン・ブランから造られる白ワインに特徴的に多く含まれ、日本固有のブドウ品種である甲州から造られる白ワインにも含まれる事が確認されている。3SH は、ブドウ果実中ではシステインやグルタチオンと結合した、それ自身は香らない抱合体の形で存在する。一般に、これらの抱合体は酵母由来の β -リアーゼ活性を有する酵素により、3SH としてワイン中に遊離されることが知られている。

乳酸菌は、ワインの製造工程においては、一般にブドウ果汁やワインに含まれるリンゴ酸を脱炭酸し、乳酸を生成するマロラクティック発酵 (MLF) を起こすことが知られている。MLF は、特に酸度の高い赤ワインや一部の白ワインにおいてワインの酸味を低減することが出来る重要な工程である。MLF 用途で使用される主要な乳酸菌としては、*Oenococcus oeni* が挙げられ、その他 *Lactobacillus plantarum* などがスターターカルチャーとして市販されている。また、MLF の副次的な効果として、ワインの香りの複雑性が向上するなどの効果があることも報告されている。ワインの香りへ与える影響としては、例えば、クエン酸代謝の結果に生じるジアセチル生成の他、モノテルペノイド配糖体からモノテルペノイドの遊離に寄与することが報告されている。しかしながら、MLF に関与する乳酸菌が 3SH 抱合体への影響についてはこれまでほとんど報告されておらず、明らかではなかった。

そこで、著者らは MLF に関与するいくつかの乳酸菌が 3SH 抱合体から 3SH 生成に与える影響を評価したところ、*Lactobacillus plantarum* に 3SH 抱合体を 3SH に変換する能力があることを新たに発見した (Takase et al. 2018)。本報告では、新しく得られた乳酸菌による 3SH 生成を中心に、乳酸菌がワインの香り生成に与える影響を解説する。

Takase et al. 2018. Impact of *Lactobacillus plantarum* on thiol precursor biotransformation leading to production of 3-sulfanylhexan-1-ol. Food chemistry 259:99–104.