

担子菌酵母における核分裂と菌糸形成の表現型解析

青木敬太

(東京農業大学 総合研究所)

2,000 種を超える酵母は系統的には子囊菌酵母と担子菌酵母に大別される。担子菌酵母の基礎研究はモデル酵母が属する子囊菌酵母に比べ遅れている。本発表では、担子菌酵母の増殖に関わる表現型として、核分裂と菌糸生長についての研究の一端を紹介したい。

研究に用いている *Trichosporon asahii* は深在性トリコスポロン症の起原因菌であり、酵母型と菌糸型の二つの生活環を持つ。また、侵襲性を有する菌糸型は、環境の変化に応じて隔壁を生じ、分節胞子（分生子）に遷移する。すなわち本種は酵母型、菌糸型、分生子の3種類の表現型を有するため、それぞれの形成様式や二形性遷移機構の研究に有用であるが未だ不明な点が多い。

担子菌酵母の核分裂は、クリプトコッカス属などにおいて先行研究があり、娘細胞側で分裂（担子菌酵母型）することが報告されている。しかし、詳細な観察の報告が少ないことから、今回、トリコスポロン目酵母（33 株）を用いて DAPI 染色で検証した。その結果、対照として用いたスポリディオボラス目酵母（54 株）では全株とも従来の核分裂が観察されたが、トリコスポロン目酵母においては、従来の核分裂に従わない種が4種存在した。代表として *Trichosporon asahii* に H2A-mCherry を持たせて経時観察を行ったところ、核が母細胞側で分裂することを確認した。よって、担子菌酵母の中でもトリコスポロン目酵母の核分裂様式は、担子菌酵母型、およびそれとは異なる様式の両方が存在し多様であること、また、二形性がこれに関与し得ることを見出した。

菌糸に関しては、我々は今までに、*T. asahii* の菌糸生長への関与が認められた Yeast Nitrogen Base の成分から、菌糸生長に最も影響を及ぼす栄養因子としてマグネシウムを同定し、酵母から菌糸への簡便な実験系を構築した。さらに、マグネシウムの添加によって菌糸が誘導される際に遺伝子の発現状態がどのように変化するかを RNA-seq で検証した。その結果、マグネシウムの添加によって発現が2倍以上変動した遺伝子は全体の約1割に及ぶことがわかった。なかでも発現が5倍以上増えた15個の遺伝子を *mee* (magnesium-enhanced expression) 遺伝子群として解析した。破壊実験の結果、 $\Delta mee8$ 、 $\Delta mee9$ 、 $\Delta mee10$ 、 $\Delta mee15$ の4株では、寒天培地中に菌糸は生じるものの、寒天培地上に隆起し白い粉吹き状態に見える分節胞子様のコロニーは親株に比べて激減することがわかった。*Mee10* は G タンパク質のシグナル伝達に関わるアレスチンのオルソログであり、その発現は *Mee 8* と *Nop14* 様ファミリーに属する *Mee 9* に依存したことから、マグネシウムによって発現誘導される菌糸から分節胞子への変換経路だと推定している。

普遍的リボヌクレアーゼを介した出芽酵母リボソームの分解機構

小川哲弘

(東京大学 大学院農学生命科学研究科)

RNase T2 は、ゲノムが解読された、幅広い生物にみられるリボヌクレアーゼである。一本鎖 RNA に作用し、これを非特異的に分解する。出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* にも RNase T2 (Rny1p と呼ばれる) は存在し、ストレス応答性を示す [1]。その後、窒素源飢餓によりリボソームがオートファジーにより分解されること、この際、Rny1p が rRNA 分解の初発酵素となることが報告された [2]。しかし、このリボソーム分解が選択的・非選択的のいずれであるか、議論が分かれていた。その後、培養細胞を用いた実験により、rRNA 修飾にかかわる核内タンパク質 NUFIP1 が受容体となり、リボソームが選択的オートファジーにより分解されることが報告された [3]。我々は出芽酵母における NUFIP1 の機能的ホモログである Rsa1p に注目し、出芽酵母においても、この因子がリボソームの受容体として機能するかを検証した [4]。

まず、野生株、および Rsa1p 遺伝子の欠損株 (*rsa1Δ*) に対して窒素源飢餓を誘導した後、リボソームタンパク質、および rRNA の分解を定量的に調べた。その結果、*rsa1Δ* 株では、野生株に比べていずれの分解も顕著に抑制されていた。次に、窒素源飢餓による Rsa1p の局在性変化を調べた。窒素源存在下では、Rsa1p は主に核内に局在し、一方リボソームは細胞質全体に存在した。これに対し、窒素源飢餓を誘導したところ、Rsa1p が細胞質内でリボソームと共局在する様子が観察された。さらに、Rsa1p がリボソーム、および Atg8p と結合することが示された。以上から、窒素源飢餓におけるリボソーム分解は選択的であることが分かった。これまで、窒素源飢餓に反応したリボソーム分解として ribophagy が知られていた。しかし、ribophagy に必要な因子の遺伝子破壊株においてもリボソームは分解された。以上から、ここで示した機構は、この ribophagy とは異なる経路であることが分かった。窒素源飢餓により液胞へと運ばれたリボソームのうち、rRNA は Rny1p が分解する。この Rny1p 遺伝子欠損株 (*rny1Δ*) にて窒素源飢餓を誘導すると、非選択的オートファジーの活性が低下した。これは、液胞内に rRNA が蓄積した結果と考えられ、Rny1p が窒素源飢餓への適応に必要な理由の一つと考えられた。

[1] MacIntosh *et al.* *PNAS* **98**, 1018–1023 (2001)

[2] Huang *et al.* *EMBO J.* **34**, 154–168 (2015)

[3] Wyant *et al.* *Science* **360**, 751–758 (2018)

[4] Minami *et al.* *J. Biol. Chem.* **301**, 108554 (2025)

樹液酵母とは何か？ その分類と生態に迫る

遠藤 力也

(理化学研究所 バイオリソース研究センター 微生物材料開発室)

白濁した樹液に昆虫が集まっている様子は初夏～秋の林内、クヌギやコナラの樹幹でよく観察される。この“樹液”とはいったい何なのだろうか？ 樹液を滲出させる樹木周辺に漂う、あの独特な芳香は、微生物（特に酵母）による発酵臭を思い起こさせる。実際に野外で採集した樹液を顕微鏡で観察すると、酵母を含むおびただしい数の微生物が棲息している。演者が先行研究を調査した限り、樹液から分離される酵母群（樹液酵母）を報告した研究が数報あるのみ（e.g. Phaff & Knapp, 1956; Soneda 1973; Lachance et al., 1982）で、白濁した樹液に棲息する酵母の種構成について、樹液中での存在量の定量的なデータを伴った研究はなかった。

演者は福島市の山林でコナラ・ミズナラの樹液を採集し、希釈平板法によって菌類を分離し、MALDI-TOF MS による迅速同定と Large subunit rRNA 遺伝子 D1D2 領域の塩基配列の相同性検索を併用して樹液中に棲息する酵母の種構成を解明した。また、一部の樹液検体については、グルコース濃度とフルクトース濃度を測定した。その結果、樹液から分離された菌類の大多数が子囊菌酵母で、樹液 1 μ L あたりの存在量は、767 ~ 98,000 CFU（コロニー形成単位、すなわち生細胞数）であった。分離された酵母種は、*Saccharomyces cerevisiae*, *S. paradoxus*, *Hanseniaspora vineae*, *Torulaspora delbrueckii*, *Schizosaccharomyces japonicus*, *Starmerella stellata*, *Zygotorulaspora cornina* 等で、これらが様々な組み合わせで寡占していた。グルコース濃度は 0.22 ~ 17.66 g/L、フルクトース濃度は 0.02 ~ 37.90 g/L であった。以上から、「樹液酵母とは何か？」という問いに対して、「樹液中の糖類を栄養源にしていると考えられる子囊菌酵母の群集である」との答えを得た。なお本研究の過程で、①子囊菌酵母のフルクトース資化能・発酵能が普遍的に存在することの実験的な検証、②幅広い酵母種の迅速同定を可能にする MALDI-TOF MS レファレンスライブラリの構築、なども行った（右 QR コード参照）。本発表で併せて報告したい。



①

②

演者は、微生物の公的菌株保存機関（カルチャーコレクション）で酵母類のキュレーターとしてバイオリソース事業に従事しつつ、野外における酵母の種多様性とその生態に興味を抱いてきた。樹液酵母とその生態の探究は、新規の酵母リソースを開発する公的な材料であることはもちろん、野外に棲息する酵母の“生き様”を追究する格好のテーマといえるだろう。

ドロップレットスクリーニング技術の油脂生産酵母への応用

中村 彰宏

(長岡技術科学大学 技術科学イノベーション系)

地球上の微生物の細胞数は $10^{29} \sim 10^{30}$ 個、種数も推定で 1000 万種を超えるが、現在までに分離・学名記載された微生物はわずか 2 万種弱にとどまり、その多様性の大部分は未解明のままである。こうした背景から、環境試料から有用微生物を効率的に探索するためのスクリーニング技術の進展は生命科学・産業分野の両面で重要である。

従来の微生物スクリーニングでは、寒天平板法や液体培養法などを用いてきたが、これらの方法はスループットや培養環境の再現性に制約がある。これに対し、近年登場したドロップレット（液滴）スクリーニング技術は、 $\mu\text{L} \sim \text{nL}$ スケールの微小液滴（ドロップレット）内で微生物を個別に培養し、そのまま自動的に大量操作・選抜することができるハイスループットな手法である。ドロップレットは微生物細胞を一細胞レベルで区画化することで、増殖速度による淘汰を防ぐことで、従来法では検出困難なレアな（存在比の低い）微生物の検出や、ドロップレット間の物質移動による、微生物間相互作用を保ったまま培養が可能となる。また、機械工学や界面化学の進歩により、マイクロ流体デバイス上でのドロップレット自動生成・操作・ソーティング技術が確立され、従来法では困難だった膨大な数の候補微生物の迅速なスクリーニングを実現している。

このように、ドロップレットスクリーニング技術は従来法では達成困難だった「ハイスループット性」「単一細胞レベルでの表現型解析」「多様な培養環境の再現」などを兼ね備え、有用微生物の探索・育種分野に革新をもたらしつつある。ここではドロップレットスクリーニング技術の油脂生産酵母への応用例を発表する。

企業研究者のキャリア開発 ～キャリア形成に向けてやること～

吉田聡

(SYT 吉田技研)

昨今の正社員の転職事情を見てみると、コロナウイルス流行の2020年は下がっているが、ここ数年は7%強で推移している。また、国別で比較すると、一生涯で転職する割合は欧米では90%前後だが、日本では60%弱である。AI技術の進歩などを考えると、転職にあたり身に着けておくべきスキルは何かなど、悩ましいところである。私は30年近く同じ会社に勤めて、その間に副業を開始し、そして去年会社を退職して転職した。新しい職場でも副業が認められているので、副業を継続しながら本業に勤しんでいる。一定の年齢を超えた後の転職には、ある程度の経験・実績とスキルが求められることが多い。そこで、転職に役立つような経験を積むために、企業研究者のキャリア形成に向けて職場でどのような心構えで、どのように仕事を行うべきか、自らの体験をもとに反省を含めてお話をさせていただく。また、近年、全世界的に温室効果ガス、特にCO₂削減が求められているので、具体的な事例としてカーボンリサイクル、CO₂削減に貢献する研究について取りあげて、何がその後のキャリア形成に役立ったかについて紹介したい。(研究の詳細は下記の文献をご参照ください)

1. 吉田聡 (1995) 生化学 **67**, 451–454.
2. 吉田聡、竹内誠 (1996) バイオサイエンスとインダストリー **54**, 24–26.
3. Yoshida, S. *et al.* (2007) *Yeast* **24**, 599–606.
4. 吉田聡 (2007) 生物工学会誌 **85**, 479–481.
5. Yoshida, S. *et al.* (2008) *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 2787–2796.
6. Ikushima, S. *et al.* (2009) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 1818–1824.
7. Tamakawa, H. *et al.* (2011) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **75**, 1994–2000.
8. Tamakawa, H. *et al.* (2012) *J. Biosci. Bioeng.* **113**, 73–75.
9. 吉田聡ら (2012) 生物工学会誌 **90**, 179–183.
10. Tamakawa, H. *et al.* (2013) *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **77**, 1441–1448.
11. 吉田聡 (2019) 生物工学会誌 **97**, 622–625.