

平成 28 年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 液胞内加水分解酵素（リパーゼ）の生化学的解析

研究者： 堀江 朋子

所属： 東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター

オートファジーは真核生物がもつ主要な分解システムの一つである。オートファジーが誘導されると、隔離膜が出現し伸長しながら細胞質成分を取り囲み、完成したオートファゴソームは液胞・リソソームと融合し、液胞・リソソーム内の加水分解酵素群により分解される。タンパク質やオルガネラは速やかに異化され、代謝変動を引き起こすと考えられている。これまでオートファジーはタンパク質分解システムとして広く認知されており、結果として生じるアミノ酸は栄養素として再利用されることが示されている。一方、タンパク質以外について、例えば糖、核酸、(膜)脂質は、分解様式と分解産物、再利用過程や代謝への影響については、不明な部分が多い。オートファジーの生理機能を真に理解するには、タンパク質分解以外の視点も必要である。

オートファジーの研究は、分解コンパートメントである液胞の理解が不可欠であり、液胞内の脂質分解は液胞内加水分解酵素（リパーゼ）が関与していることが示唆されている。しかし、液胞内での(膜)脂質分解機構についてはこれまで全く明らかにされていない。リパーゼによる膜分解は、秩序だっで行われないと液胞膜まで分解する危険を伴うため、厳密かつ巧妙な仕組みがあることは容易に想像できる。

私は、液胞内の酵素であるリパーゼを生化学的に解析することにより、液胞内の膜脂質分解機構は解けるのではないかと考え、リパーゼの単離・精製を進めてきた。さらに、リパーゼの基質である膜（主としてオートファジックボディ膜）の性質を知るといふ部分にも重点を置いた解析を行ってきており、その結果について報告する。

平成 28 年度「地神芳文記念研究助成」

成果報告要旨

研究題目： 出芽酵母ユビキチンリガーゼ Rsp5p を介した
新規アルコール発酵調節機構の解明

研究者： 渡辺 大輔

所属： 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* によるアルコール発酵は、パンなどの発酵食品や酒類、バイオエタノールの製造などに広く用いられる、人類にとってもっとも馴染みの深い微生物機能の一つである。ところが、酵母が生み出すエタノールは自らにも毒性を示し生育および発酵の遅延・停止をもたらすため、その限界をいかに突破するのかが課題である。私たちは以前に、真核生物に広く保存された Nedd4 ファミリーユビキチンリガーゼ Rsp5p が、エタノールなどの環境ストレスに対する応答に必須な役割を果たすことを明らかにしている。そこで、本研究では、アルコール発酵調節における Rsp5p の意義の解明を目的とした。

Rsp5p は、基質認識のための WW ドメインを有しており、アレクチン様アダプタータンパク質 Bul1/2p および Art1p と協調的に機能することで、ストレスによって生じる異常タンパク質などの選択的な識別を可能としている。本研究ではまず、WW ドメインの機能欠失型変異である *rsp5^{A401E}* 変異および *BUL1/2*、*ART1* 遺伝子の破壊が、いずれも、20%グルコース含有 YPD 培地における発酵速度を顕著に低下させることを見出した。発酵中の酵母細胞を用いたメタボローム解析の結果、*rsp5^{A401E}* 変異では細胞内ピルビン酸含量の増大が認められたことから、グルコースから解糖系により生じたピルビン酸をエタノールに変換するための、ピルビン酸デカルボキシラーゼ (PDC) またはアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH) の機能低下が推測された。さらに、エタノールストレス存在下における *art1Δ* 遺伝子破壊株のトランスクリプトーム解析の結果、*PDC6* および *ADH5* 遺伝子の発現誘導に欠損を示すことが判明した。従来、Pdc6p、Adh5p はいずれもマイナーなアイソザイムとされ、アルコール発酵への影響はほとんどないと報告されていたが、私たちの解析では、*PDC6* または *ADH5* 遺伝子の単独破壊だけでも発酵速度の低下につながることを示された。一般に、解糖系遺伝子の発現は恒常的であると考えられることが多いが、本研究により、発酵過程における、Rsp5p とアダプタータンパク質を介した *PDC6* および *ADH5* 遺伝子の発現誘導という新規現象が見出され、これが旺盛なアルコール発酵を維持する上で重要な役割を果たすことが明らかになった。