

【2020 年度杉山産業化学研究所助成報告書】

三重大学大学院生物資源学研究所 梅川碧里

助成研究題目：「パン酵母の栄養ストレス応答機構の解明とその利用」

出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は、ヒトの食生活に不可欠の産業微生物であるとともに、真核生物の代表的なモデル生物である。そのため、酵母における糖質代謝・発酵制御の仕組みを解明することは、基礎・応用の双方の観点から重要である。出芽酵母がグルコースからエタノールを生産するまでの発酵経路そのものは解明されて久しいが、グルコースおよびその飢餓に応答して、細胞内代謝・発酵に関わる経路がさまざまな分子を介して制御調節されるメカニズムとその生理的意義はあまり理解が進んでいない。本研究では、出芽酵母の糖質代謝発酵およびその制御調節に関わる新たな分子を同定し、当該分子のグルコース飢餓ストレス応答における生理的役割を明らかにすることを試みた。

報告者のこれまでの研究により、出芽酵母の細胞内で *N*-結合型糖鎖の代謝分解を担

うマンノシダーゼ酵素 Ams1 が、グルコース飢餓ストレスに応じて、転写レベル・翻訳後レベルの双方の機構により著しく活発化することがわかった[文献 1]。また, Ams1 はオートファジーや細胞形態と連動して制御されること, およびそのシグナル伝達機構を解明してきた。すなわち, Ams1 の上流で膜タンパク質 Ecm33 がグルコースの細胞内取り込みに関与しており, 細胞内ではサイクリン Clb4 が TOR キナーゼにグルコースシグナルを伝達することによってオートファジー, 細胞形態, Ams1 を介した細胞内糖鎖分解が制御されるという仕組みである[文献 2,3]。しかし, Ams1 の下流で糖質代謝に関わる分子は同定できておらず, それ以外の糖質代謝酵素もよくわかっていない。今回, 報告者は既知ヘキソキナーゼにアミノ酸配列の類似性を示す機能未知タンパク質である Emi2 がグルコース飢餓ストレスに応じて特異的に発現するヘキソキナーゼ酵素であることを見出した[文献 4]。また, Ams1 により糖鎖から切り出されたマンノースを解糖系で代謝可能なマンノース-6-リン酸に変換できることも *in vitro* の実験より明らかとした。ヘキソキナーゼは出芽酵母の解糖系の初段で働く代謝酵素であり, アルコール発酵においても重要な酵素であるが, 出芽酵母のヘキソキナーゼとして長年認知されていたのは, Hxk1, Hxk2, Glk1 の 3 つのみである。Emi2 は, 他の 3 つのヘキソキナーゼとは異なり, 高グルコース存在下での活発な細胞増殖には必要でないが, 低グルコース条件下における酵母の生存維持に必要であることも明らかとした(論文作成中)。酵素学的パラメーターの比較解析からも, Emi2 は低濃度のグルコースおよびマンノースに対して

非常に高い親和性を有しており、ゆるやかに代謝する酵素であることが示された。また、上記 Emi2 に関する研究を行う中で、出芽酵母の既知ヘキソキナーゼとは全く異なる基質特異性を有する新規な糖キナーゼ酵素も発見した。本キナーゼ酵素は、グルコースにはほとんど作用せず、出芽酵母の既知ヘキソキナーゼが作用しない *N*-アセチルグルコサミンを特異的にリン酸化する酵素であることが示された。また、酵母の遺伝子欠損株を用いた解析により、本キナーゼが酵母の細胞壁ストレス耐性に関与することもわかってきた（論文作成中）。本酵素はデータベース上のいずれの既知酵素とも相同性が20%以下であり、知見は皆無である。本酵素の栄養飢餓ストレス応答における役割や細胞内代謝経路における位置付けについては現在解析中である。

本助成による支援を受けて行われたこれらの研究によって、未解明な出芽酵母の糖質代謝の分子機構と栄養ストレス応答における新たな役割が明らかとなっていった。引き続き、当該メカニズムに関わる未同定の分子を明らかにし、生理機能を解明するとともに、出芽酵母の育種にも結びつけていきたい。

<文献>

[1] Umekawa M. *et al.*, "The signaling pathways underlying starvation-induced upregulation of α -mannosidase Ams1 in *Saccharomyces cerevisiae*." *Biochim Biophys*

Acta. 1860:1192-1201 (2016)

[2] Umekawa M. *et al.*, "Ecm33 is a novel factor involved in efficient glucose uptake for nutrition-responsive TORC1 signaling in yeast." *FEBS Lett.* 591:3721-3729 (2017) ※ Editor's choice

[3] Umekawa M. *et al.*, "Mitotic cyclin Clb4 is required for the intracellular adaptation to glucose starvation in *Saccharomyces cerevisiae*" *FEBS Lett.* 594: 1329–1338 (2020) ※ Highlight article, 2019 年度杉山産業化学研究所研究助成による成果論文

[4] Umekawa M. *et al.*, "The Emi2 protein is a hexokinase expressed under glucose starvation in *Saccharomyces cerevisiae*." *J App Glycosci.* 67, 103–109 (2020) ※本助成 (2020 年度杉山産業化学研究所研究助成)による成果論文

以上