## 分裂酵母を基盤とした増殖制御機構と CoQue生合成の研究



島根大学生物資源科学部 川 向 誠

## はじめに

分裂酵母  $(S.\ pombe)$  はヒト細胞と共通の細胞制御機構を維持している部分が多いことから優れたモデル真核微生物である。分裂酵母は、栄養源枯渇という条件下で異なった接合体が融合し減数分裂過程を経て胞子形成する。その過程は、シグナル伝達系を経て伝えられる。グルコース応答の情報伝達がcAMP経路であり、フェロモンのシグナル伝達経路が Ras-MAP キナーゼ経路になる。一方、分裂酵母は遺伝子工学的な手法が駆使できる  $CoQ_{10}$  を合成する有用な生物である。そのことにいち早く着目し、 $CoQ_{10}$  の生合成に関わる遺伝子群を解明し、分裂酵母に限らず、 $CoQ_{10}$  高生産大腸菌、酵母、イネの育種を行い、世界に先駆けて  $CoQ_{10}$  生産生物の開発に成功した。

### 1. 分裂酵母の減数分裂過程への移行の分子機構

#### 1-1. 分裂酵母の cAMP 経路

分裂酵母は体細胞分裂の解析などで優れた成果が報告されて いるが、減数分裂過程へと増殖形態を大きく変える分子機構は 1990年代は不明な部分が多かった。グルコースの枯渇や窒素 源の枯渇で、分裂酵母は、細胞周期をG1期で停止させ接合過 程へ移行する. 外界のグルコースは、レセプターにより認識さ れ、Gタンパク質を介して、アデニル酸シクラーゼを制御する. アデニル酸シクラーゼは cAMP の合成を誘導し、プロテイン キナーゼ A (PKA) の制御サブユニットに結合し、PKA が活性 化される. この一連のグルコースを介したシグナル伝達経路で, 体細胞分裂から減数分裂への増殖サイクルの変化を制御してい る. cAMP を過剰に合成する分裂酵母は、減数分裂過程へ入ら ず体細胞周期を維持し細胞が伸長する1).この発見は、大腸菌 での cAMP と細胞伸長の関与を以前研究していた演者として は、原核生物と真核微生物の普遍的な制御を見出すことができ 感慨を覚えた<sup>2)</sup>. アデニル酸シクラーゼを精製することで、そ れに結合する Cap1 を見出し、精製した Cap1 タンパク質から、 抗体を作製し、対応する遺伝子をクローン化した<sup>3)</sup>. ヒトCAP ホモログ遺伝子のクローン化にも成功した. この Cap1 はアデ ニル酸シクラーゼを制御すると共に、細胞骨格の形成にもかか わる真核生物で高度に保存された特徴的な二機能性タンパク質 である。当時は酵母のみの制御系が見出されただけであった が、ヒトにおいても類似の制御系の存在が報告されている。グ ルコースを介した cAMP経路では細胞寿命に関わることやス ピンドル形成に関わる研究へと展開している(図1).

## 1-2. 分裂酵母の Ras 経路

ガンタンパク質として有名な RAS の分裂酵母ホモログの機能解析を進め、Rasl の下流に位置する Byr2 キナーゼを制御する機構を調べたところ、新たな因子として Rad24 (14-3-3) を見出し、Rasl のシグナル伝達系路の抑制的な制御因子であることを証明した  $^4$ . さらに、その Rasl 経路の下流に位置する Spk1 キナーゼ

がRNA結合タンパク質であるMsa2のリン酸化を制御し、リボソーム結合タンパク質のCpc2の結合を調整する。さらに、RNAへリカーゼMoc2と共同して転写因子Stellの翻訳を制御し、巨大な複合体のストレス顆粒を形成することを示した<sup>5)</sup>.この制御機構は、細胞内で一時的に有性生殖過程への移行を制御する仕組みと考えられる。このような分裂酵母の研究から増殖サイクルを減数分裂過程へと切り替える分子機構として、グルコースをシグナルとしたcAMP経路やRaslを起点とする情報伝達制御ネットワークを解明し、高等生物の増殖制御機構の理解へ繋がる外界の情報を内部に伝える分子機構を明らかにした。

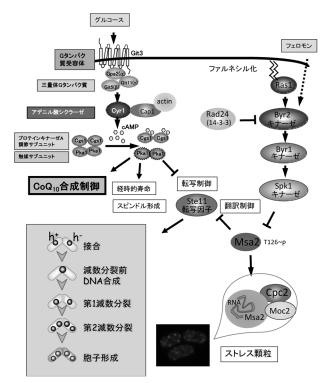


図1. 分裂酵母の有性生殖過程移行に関わるシグナル伝達経路

## 2. コエンザイム Q の役割と生合成

# 2-1. コエンザイム $Q_{10}$

コエンザイム Q (ユビキノン) はイソプレノイド側鎖を有するキノンの一種で、広く生物界に分布しており、電子伝達系の成分として、エネルギー産生に必須な化合物であると同時に、補酵素としての役割を担っている(図2). 現在では、 $CoQ_{10}$  は食品サプリメントとして広く知れ渡っているが、演者がCoQの研究を開始した1990年代においては、まだ認知度の低い化合物であり、部分的な生合成が知られているのみであった. 現在でもその生合成は完全解明には至っていないが、直接的な反応に関わる酵素群以外にも制御系を含め重要な知見が蓄積して

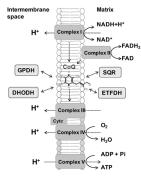
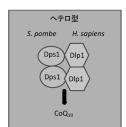


図2. CoQ の電子伝達系と 補酵素としての役割

きている<sup>6</sup>. 通常の生化学の教科書においては、CoQ は脂質膜に遊離した形で描かれているが、CoQ に結合する Coq10 タンパク質が存在し、呼吸鎖の効率的な機能を支えている. 分裂酵母の CoQ 欠損株は、顕著な硫化水素の発生を誘導し、CoQ が Sulfide の酸化過程で、SQR を介して硫黄代謝に直接関わることを発見し、それがヒトにおいても同様に働いている.

#### 2-2. コエンザイム Q<sub>10</sub> の側鎖合成酵素

CoQ の生合成経路について大腸菌のイソプレノイド側鎖合成酵素 IspB の解析から始め、その知見を基に真核生物のイソプレノイド側鎖合成酵素の解析に発展させた $^{7)}$ . CoQ は、出芽酵母では  $CoQ_6$ 、大腸菌では  $CoQ_8$  である。その鎖長を決定しているのが側鎖合成酵素であることを示し、それぞれの生物の側鎖長は、最適な鎖長を選択していることを見出した(図3)。大腸菌( $CoQ_8$ 生産株)や出芽酵母( $CoQ_6$ 生産株)で、元々有する側鎖合成酵素をイソプレン 10単位の側鎖合成酵素に置き換えることで  $CoQ_{10}$  を合成させることに世界で最初に成功した $^{8)}$ . 加えて Dps1 をミトコンドリアで発現させることで元来 $CoQ_9$  を合成するイネで  $CoQ_{10}$  を生産する技術を世界で最初に開発した。



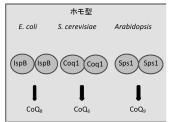


図3. CoQの側鎖合成酵素の分類

# 2-3. コエンザイム Q10 の生産

分裂酵母の破壊株ライブラリーを用いて、 $CoQ_{10}$ 合成量の低い株を探索し、その中で、新規のcoq11、coq12を含めキノン骨格の合成に関わる12種の機能解析を行った(図4)分裂酵母はヒトと同じ型の $CoQ_{10}$ を合成することから、その生合成の解析に有用であると同時に、遺伝子改変可能な $CoQ_{10}$ 生産株として大きな利点がある。分裂酵母内で $CoQ_{10}$ の高生産を検討し、上流の経路を増強することや糖源が大きく影響することを見出し、生産性の上昇した株を得た $^{9)}$ . 分裂酵母の $^{2}$ CAMP経路が $^{2}$ COQ $^{2$ 

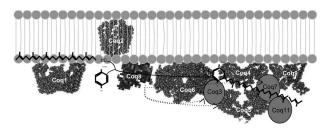


図4. CoQ生合成複合体の形成

た10)

## 2-4. コエンザイム Q<sub>10</sub> とヒトの遺伝病

ヒトや植物の CoQ合成系遺伝子の解析を進め、その遺伝子を分裂酵母内で発現させることで、ヒトや植物と分裂酵母の合成経路が類似していることを示した  $^{11}$  . 植物では、種子の形成に必須であることを初めて報告した.一連の研究の中で、演者らが発見したヒトのイソプレノイド側鎖合成遺伝子は、ヒトの遺伝病であるリー症候群の原因であるという発見に繋がった.遺伝的に  $CoQ_{10}$  を微量にしか合成できない症例が次々と発見されてきている中で、演者らが同定したヒトのヘテロマー型の側鎖合成酵素をコードする PDSS1 (DPS1), PDSS2 (DLP1) 遺伝子  $^{12}$  は、その因果関係を証明する発端となり、医学的な側面でも貢献することができた(図4).現在では CoQ 合成に影響する遺伝病が多数報告されるようになり、このことは、分裂酵母の CoQ 生合成解析が上トの遺伝病の研究に繋がり、分裂酵母での詳細な CoQ 生合成解析が重要であることを意味している.

#### おわりに

分裂酵母は出芽酵母と 10 億年前に分岐したと推定される酵母で、細微周期の研究で優れた成果が得られている。演者が着目した基礎的な減数分裂過程の制御の解析や、より実用的な意味合いをもつ CoQ<sub>10</sub> の生合成、生産の過程も含めて、有益な情報を提供してくれている。

日本で発見された分裂酵母の1種  $(S.\ japonicus)$  はほとんど  $CoQ_{10}$  を合成せず、呼吸欠損株でありながらも、エタノール生産能が高く、エネルギー獲得系を解糖系に依存している興味深い酵母で、その特徴的な性質の解析が待たれている。まだまだ分裂酵母は  $S.\ japonicus$  も含めて、探求する価値がある微生物であると感じている.

## (引用文献)

- 1) Kawamukai et al., Mol. Biol. Cell, 2: 155-64, 1991
- 2) Kawamukai et al., J. Bacteriol., 171: 4525-29, 1989
- 3) Kawamukai et al., Mol. Biol. Cell, 3: 167–80, 1992
- 4) Ozoe et al., Mol. Cell Biol., 22: 7105-19, 2002
- 5) Paul et al., FEBS J., 276: 5076-93, 2009
- 6) Kawamukai, Biosci. Biotechnol. Biochem., 80: 23-30, 2016
- 7) Kaino et al., J. Biol. Chem., 276: 7876–83, 2001
- 8) Okada et al., Eur. J. Biochem., 255: 52-59, 1998
- 9) Moriyama et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., 79: 1026-33, 2015
- 10) Nishida et al., Applied Microbiol. Biotechnol., 103: 4899-915, 2019
- 11) Hayashi et al., PLoS One, 9: e99038, 2014
- 12) Saiki et al., FEBS J., 56: 5606-22, 2005

謝 辞 本研究は米国CSHLの M. Wigler博士の下で開始した分裂酵母の Ras の研究を発端とし、CoQ合成に関する研究は独自に発展させた研究です。研究の大半は島根大学生物資源科学部、応用微生物学研究室で推進した成果です。この研究に至るまでに、駒野徹(京都大学名誉教授)、内海龍太郎(近畿大学名誉教授)、松田英幸(島根大学名誉教授)の各先生にはご指導、励ましをいただき感謝いたします。本研究は、長年一緒に研究を進めてきた戒能智宏教授、松尾安浩准教授、中川強教授、当研究室に所属していた田中克典教授(関西学院大)、岡田憲典准教授(東大)、西田郁久助教(新潟大)はじめ、数多くの研究室の修了生、卒業生、現在の学生達の協力の下に成し遂げられた成果です。本研究に関与した多くの共同研究者に深く感謝いたします。