



酵母におけるアミノ酸の新しい生理機能と代謝調節機構に関する研究

奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科 西村 明

はじめに

アミノ酸はこれまで、タンパク質の構成成分としての認識が強く、遊離状態のものは単なる窒素源の貯蔵体や代謝産物の前駆体として考えられてきた。しかし、最近では遊離状態のアミノ酸が生体の恒常性維持に必須であることが理解され始め、アミノ酸の重要性が注目されている。私はこれまでに出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* における遊離アミノ酸の新規な代謝制御機構と生理機能を解析してきた。

1. 発酵環境におけるプロリン資化抑制機構

酵母はワインなどの醸造に用いられ、酵母による原料の資化(細胞内への取込み、分解)が酒類の味・風味を決める大きな要因となっている。プロリン(Pro)はワインやビールの原料であるブドウや麦芽中に最も豊富に含まれるアミノ酸であるが、発酵中の酵母はプロリンをほとんど資化することができず、発酵後も多量に残存する。残存したプロリンは苦味の増加や酸味の減少を引き起こし、最終製品であるワインやビールの酒質を低下させる。さらに、豊富に存在するプロリンを窒素源として資化できないため、発酵中に窒素源の枯渇がしばしば起こり、人工窒素源(アンモニウム塩)の添加が必要となる。この添加物は、ワインやビールの品質に影響を与えるだけでなく、製造コストの増加要因にもなっている。このため、プロリンは「最も無駄で厄介な窒素源」として30年以上前から認識されている。

私はPro要求性株を利用した独自のスクリーニング系から、アルギニン(Arg)がProを細胞内に取り込むトランスポーターPut4を細胞膜から除去することで、Pro消費を強く阻害することを発見した^{1), 2)}。この機構を詳細に解析した結果、ArgのトランスポーターCan1がトランスポーターとして働くのではなく、細胞外Argのレセプター(受容体)として機能することにより、Pro資化を抑制することを見出した³⁾(図1)。このよ

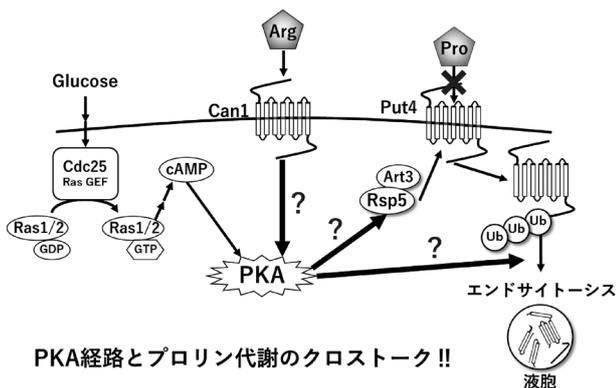


図1. プロリン資化抑制機構(仮説)

うなレセプター様の機能を併せ持つトランスポーターは「トランスセプター」と呼ばれ、炭素源応答の主要制御因子であるProtein kinase A (PKA) をcAMP非依存的に活性化することが知られている。しかし、トランスセプターがどのようにPKAを活性化し、栄養源の資化選択性を生み出すのか、その分子機構については全く明らかになっていない。今後、このメカニズムを解明することで、細胞の環境応答機構における新たなパラダイムとして「トランスセプターを介したアミノ酸代謝と環境因子のクロストーク」が提唱できると考えている。

また、私はプロリン要求性株のスクリーニング系を活用し、プロリン資化抑制に関与する遺伝子の探索とその解析を行った。その結果、糖代謝の制御に重要なCdc25/Ras/cAMP依存性PKA経路がプロリン資化抑制を制御していることが判明した⁴⁾。さらに、CDC25の機能欠損変異株はワイン発酵モデルにおいてもプロリンを消費できることを見出した。つまり、糖代謝/PKA経路とプロリン代謝に密接なクロストークが存在することが示唆された(図1)。

さらに、私は大規模な野生酵母コレクション(Phaff Yeast Culture Collection, カリフォルニア大学デービス校)からワインやビールの発酵モデル培地上でプロリンを有意に消費する酵母(プロリン資化性酵母)を約20株取得した⁵⁾。これらのプロリン資化性酵母について簡易的なビール発酵試験を行った結果、2株は比較的高いアルコール生産性(約3%)を示し、ビール製造に適していることが判明した。

本研究を通して、プロリン高資化性酵母を構築することで、プロリン含量の低下したワインやビールを生み出すことが可能となる。その結果、「①スッキリ」・「②豊かな香り」・「③オーガニック」をキーワードとした高品質かつ個人的な発酵飲料の創出に繋がり、ワインやビールの高付加価値化と差別化が期待できる(図2)。



図2. プロリン資化抑制機構に関する研究の将来展望

2. アルギニンによるバイオフィーム抑制機構

バイオフィームは、固体表面上に付着する微生物とそれらが

産生する細胞外マトリックスによって構成される高次構造体であり、医療面では慢性感染を、工業面では配管の目詰まりや金属腐食などをそれぞれ引き起こすため問題視されている。このため、生体や環境に対する適合性が高い物質を活用したバイオフィルムの制御が期待されている。私はこれまでに Arg が Can1 のエンドサイトーシス誘導を通して、接着因子 FLO11 の転写を抑制し、バイオフィルム形成を阻害していることを見出した⁶⁾。また、Arg は黒カビや病原性真菌 *Candida glabrata* を含む多くの真菌のバイオフィルム形成を抑制することが判明し、幅広い汎用性を示すことができた。現在、Arg を配合した素材（シリコンなど）におけるバイオフィルム抑制効果を検討しており、今後はこれら素材の産業利用が期待できる。

3. システインパルスルフィドの生合成経路と寿命制御機構

システインパルスルフィド (CysSSH) は、システインのチオール基に複数のイオウ原子が付加したポリスルフィド構造を有しているアミノ酸誘導体である。CysSSH は細胞内に多量に存在することが知られているが (システインの量に対して 20–30%)、CysSSH の合成経路や生理機能はほとんど判明していない。私は古細菌以外の生物において、システニル tRNA 合成酵素 (cysteinyl-tRNA synthetase: CARS) が主要な CysSSH 合成系であることを報告した⁷⁾。また、酵母の CARS 遺伝子を同定し (CRSI と命名)、CRSI は 1 つの遺伝子から 2 つのタンパク質 (サイトゾル型とミトコンドリア型) を発現していることを見出した⁷⁸⁾。この機構はミトコンドリアのエネルギー代謝の変化に依存して起こり、このような調節機構は私が初めて提唱したユニークなものである。さらに、CysSSH はミトコンドリアのエネルギー代謝や小胞体内タンパク質の恒常性維持に関与し、寿命の制御因子として働いていることを発見した (論文準備中)。現在、Crs1 の CysSSH 合成活性に対する阻害剤を探索中であり、抗真菌剤の開発に貢献できると考えている。

4. アミノ酸代謝制御による発酵産物の差別化・高機能化

私はこれまでにエールビール酵母や清酒酵母のアミノ酸代謝を改変した変異株を育種し、商品開発に大きく貢献している (図3)。特に、エールビール酵母において、プロリン含量を増加させビール発酵初期に生じる浸透圧ストレスに耐性を付与した変異株を育種し、発酵期間の短縮とそれに伴うまろやかで軽い口当たりを実現したクラフトビールの開発に貢献した。また、フェニルアラニン含量を増加させることで、バラ様の香気成分である β -フェネチルアルコール (フェニルアラニン代謝物) 含量が約 15 倍増加 (閾値以上) した変異株を育種し、独自性の高いクラフトビールの開発に成功した。

おわりに

アミノ酸の研究はアスパラギン酸の発見 (1806年) を皮切りに 200 年以上の歴史があり、古臭い研究に思われるかもしれない。しかし、我々の研究をはじめとしてアミノ酸には未知の生理機能や制御機構がまだまだ存在しており、興味が尽きない。アミノ酸は誰もが知っているように生命に必須な分子であるため、これらからもアミノ酸研究に終わりがくるとはならないだろう。今後も古くて新しいアミノ酸研究の楽しさを世間に伝えていきたい。また、このような研究を通して、酵母の魅力や機能を高める手助けになればと考えている。

(引用文献)

- 1) Nishimura A et al., Inhibitory effect of arginine on proline utilization in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 37: 531–540, (2020)
- 2) Nishimura A et al., The yeast *a*-arrestin Art3 is a key regulator for arginine-induced endocytosis of the high-affinity proline transporter Put4. *Biochem Biophys Res Commun*, 531: 416–421, (2020)
- 3) Tanahashi R et al., The arginine transporter Can1 acts as a transceptor for regulation of proline utilization in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, (2023), in press
- 4) Nishimura A et al., The Cdc25/Ras/cAMP-dependent protein kinase A signaling pathway regulates proline utilization in wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* under a wine fermentation model. *Biosci Biotechnol Biochem*, 86: 1318–1326, (2022)
- 5) Tanahashi R et al., Large-scale screening of yeast strains that can utilize proline. *Biosci Biotechnol Biochem*, (2022), in press
- 6) Nishimura A et al., Arginine inhibits *Saccharomyces cerevisiae* biofilm formation by inducing endocytosis of the arginine transporter Can1. *Biosci Biotechnol Biochem*, 86: 1300–1307, (2022)
- 7) Akaike T et al., Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics. *Nat Commun*, 27: 1177, (2017)
- 8) Nishimura A et al., Expression of mitochondrial cysteinyl-tRNA synthetase via alternative transcriptional initiation as regulated by cell energy metabolism in yeasts. *J Biol Chem*, 294: 13781–13788, (2019)

謝辞 本研究は、奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科バイオサイエンス領域ストレス微生物科学研究室と東北大学医学研究科環境医学分野において実施されました。酵母研究の楽しさと厳しさを教えて頂き、本奨励賞にご推薦下さいました奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科教授高木博史先生に心より感謝申し上げます。また、緻密な実験計画とデータ取得、タイムリーな論文発表の重要性を厳しく教えて頂いた東北大学医学研究科教授 赤池孝章先生に深く感謝いたします。さらに、本研究に携わり多大なるご指導・ご助力を賜りましたスタッフや学生、共同研究者の皆様方に対してこの場を借りて感謝申し上げます。

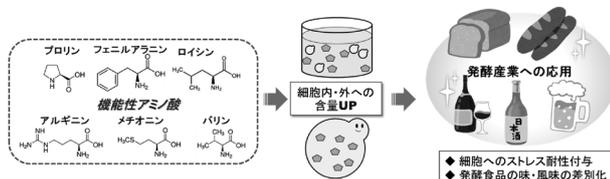


図3. アミノ酸研究の社会実装