

# 酵母の酸素認識機構の解明

中川 智行

(東京農業大学生物産業学部 食品科学科)

生物は酸素が存在しない原始環境下で誕生し、その後、酸素を利用する呼吸によって効率良くエネルギー獲得するよう進化してきた。しかし、呼吸を行う生物は低酸素状態にさらされた場合、それに合わせて代謝を切り替える生命維持のための機構を合わせ持つ。例えば、出芽酵母は酸素分圧が低い場合、呼吸からアルコール発酵に代謝を切り替えることで生存を模索し、ヒトは乳酸発酵に代謝を切り替えることでエネルギーの獲得を試みる。

また、生物は呼吸鎖のみならず $\beta$ -酸化をはじめとした様々な代謝の過程で酸素を利用している。つまり外環境の酸素濃度にあわせて代謝を切り替えるのみならず、酸素を利用する様々な代謝系の間で活性レベルのバランスを整え、酸素代謝系を細胞全体でコーディネートする機構が生物には存在することが推察される。

一方、メタノールを唯一の炭素源として利用できるメチロトローフ酵母は、そのメタノール代謝において初段階酵素アルコールオキシダーゼ (AOD) がペルオキシソームにおいて酸素を基質として要求し、さらには代謝下流の呼吸鎖でもエネルギー獲得のために大量に酸素を消費する。このことは本酵母のメタノール生育は酸素によって支配されていることを示しており、これら2つの大酸素消費箇所での代謝バランスを維持することはメタノール代謝における最も重要なポイントであるものと考えられる。

このようにメチロトローフ酵母のメタノール代謝系は生物の酸素認識および酸素代謝バランス調節機構の解明のための格好のモデル系であると考え、本研究ではメチロトローフ酵母 *Pichia methanolica* AOD アイソザイムを指標遺伝子として酸素に対する発現応答機構の解析を行った。

## 1. AOD アイソザイムの酸素に対する発現応答

*P. methanolica* は2種のAODサブユニットのランダムな8量体への会合により9種のアイソザイムを形成する(1)。これら2種のAOD遺伝子 *MOD1*、*MOD2* の発現誘導が酸素によって制御されているかどうか活性染色法および mRNA レベルにて観察した (Fig. 1A)。その結果、両遺伝子は酸素の有無に対する的確に応答し、酸素非存在下では全く誘導されなかった。さらに両遺伝子は酸素濃度の変化に対して異なる発現を示し、低酸素濃度下では *MOD1* が、高酸素下では *MOD2* が支配的に発現し、その発現応答は転写レベルで制御されていた。

## 2. 呼吸鎖と AOD アイソザイムの発現バランス

メタノール代謝において酸素は AOD と呼吸鎖で消費され、それぞれの酸素の消費バランスがメタノール生育において重要なポイントであることが考えられる。そこで AOD と呼吸鎖の間の酸素消費バランスの維持に関して検討を行うことにした。呼吸鎖と AOD の活性バランスを変化させることによる影響を観察するため、呼吸鎖阻害剤を用いて AOD の誘導レベルを観察した。その結果、アジ化ナトリウムおよびアンチマイシンの添加により呼吸鎖活性を制限すると AOD アイソザイムの誘導が抑えられ、その添加量を変化させることで酸素濃度の変化と全く同様の AOD アイソザイム発現パターンを再現することができた(Fig. 1B)。これらの結果から、AOD アイソザイムの酸素に対する発現調節は、呼吸鎖の活性に合わせて行われていることが明らかとなった。

## 3. 酸素代謝バランスの維持とオルガネラ間の対話

本研究においてメチロトロフ酵母は 2 つの酸素消費系、呼吸鎖と AOD の活性バランスを維持することで、効率のよいメタノール代謝を行っていることが明らかとなった。また、そのバランス維持は呼吸鎖を中心として行っており、呼吸鎖のミトコンドリアと AOD の局在するペルオキシソーム間の酸素代謝を円滑に進めるため、核を挟んだ「オルガネラ間の対話」が存在することが示唆された。

これら酸素認識おける「オルガネラ間の対話」は酵母からヒトまでのすべての真核生物に保存されているシステムであると考えており、これらの仕組みを明らかにすることにより、ヒトから酵母まで、医学から発酵工学まで様々な分野での応用に期待できるものと考えている。

- 1) Nakagawa T, Mukaiyama H, Yurimoto H, Sakai Y, Kato N. 1999. Alcohol oxidase hybrid oligomers formed *in vivo* and *in vitro*. *Yeast* **15**: 1223–1230.

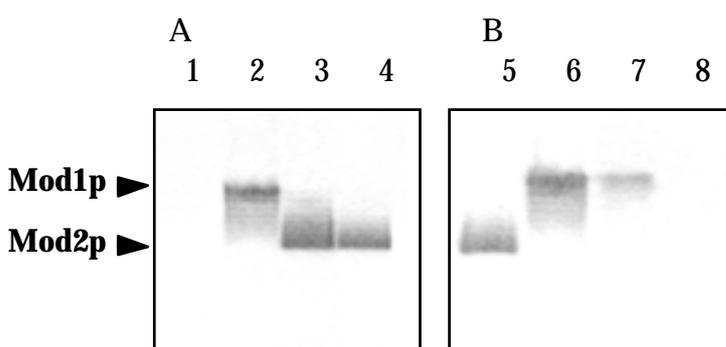


図 1. AOD アイソザイムの誘導パターン. (A) 酸素濃度が AOD 誘導に及ぼす影響. レーン 1、嫌気条件; レーン 2、振とう速度 50rpm; レーン 3、100rpm; レーン 4、150rpm. (B) アジ化ナトリウムの AOD 誘導に及ぼす影響. レーン 5、添加なし; レーン 6、 $1 \times 10^{-3}$  %; レーン 7、 $2 \times 10^{-3}$  %; レーン 8、 $3 \times 10^{-3}$  %.