

# 酵母の新規ストレス耐性機構の解明

水沼 正樹

広島大学大学院 先端物質科学研究科

**研究成果：**酵母における新規ストレス耐性メカニズムを発見した。特に、メチオニン代謝がストレス耐性と密接に関係があることが示唆された。

## 研究の目的

生体における栄養のバランスは、重要な寿命決定因子である。栄養制限や遺伝的あるいは薬理的方法により体内の栄養源を減らしてやると様々な生物の寿命が延長することが分かってきた。我々は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の *S*-アデノシルホモシステイン(SAH)水解酵素における *sah1-1* 変異は細胞増殖及び経時的寿命に影響を及ぼすことを見出した。実際、*sah1-1* 変異株は細胞増殖の悪化及び経時的寿命が著しく短くなるなどの表現型が観察される。さらに、我々は *sah1-1* 変異株の増殖遅延の抑圧を指標に長寿命変異株を取得した(変異を *SSG1-1* と命名)。*SSG1-1* 単独変異株でも野生株と比較して長寿となった。興味深いことに、*SSG1-1* 変異株は酸化ストレスや熱ストレスに対して耐性を示すことが分かった。しかし、これらのストレス耐性メカニズムは不明である。本研究では、酵母 *SSG1-1* 変異株の解析を通して、新規ストレス耐性メカニズムを明らかにすることを目的に解析を行った。

## 方法

ストレス耐性試験。酸化ストレス耐性試験はスポットアッセイにより行った。酵母細胞菌体を  $5 \times 10^7$  cells/ml になるように滅菌水に懸濁し、図に示した濃度の過酸化水素を含む SDC 固体培地にスポットした。その後、25°C で 3 日間培養した。熱ショックストレス耐性試験は、酵母細胞菌体を  $5 \times 10^7$  cells/ml になるように滅菌水に懸濁し、YPD 固体培地にスポットした。プレートを 55°C で 35 または 40 分間培養し(熱ショック)、25°C に移して引き続き 3 日間培養した。

## 結果

### 1) *SSG1-1* 変異株はストレス耐性を示す

*S*-アデノシルメチオニン(SAM)は、メチオニン代謝経路においてメチオニンと ATP により生合成され、メチル基供与体としてタンパク質、DNA、脂質など様々な生体分子のメチル化反応に利用される<sup>1)</sup>。SAHは、SAMのメチル化反応の競合阻害物質として働くため、速やかに分解される必要がある(図 1)。これまでに我々は、*sah1-1* 変異株が増殖遅延及び細胞内に SAM と SAH を高蓄積することを見出した<sup>2)</sup>。さら

に、*sah1-1* 変異株の示す増殖遅延の抑圧変異として *SSGI-1* 変異を同定した<sup>3)</sup>。Ssg1-1 タンパク質は SAM 及び SAH の産生に関与していた。興味深いことに、*SSGI-1* 単独変異株は長寿並びに酸化ストレスや熱ショックストレスに対して耐性を示すことが分かった(図 2)。さらに、SAM 合成がこれらストレス耐性に重要であることも見出した。

## 2) Ssg1-1 タンパク質は液胞膜に局在する

Ssg1-1 タンパク質の機能を調べるために、蛍光顕微鏡を用いて Ssg1-1 タンパク質の細胞内局在を観察した。その結果、Ssg1-1 タンパク質は対数増殖期では液胞膜に強く局在することが観察された(図 3)。次に Ssg1-1 タンパク質が液胞膜に局在することがその機能に重要か調べることにした。*SSGI-1* 変異によるストレス耐性効果は、正常な液胞形態に重要な機能を持つ *VPS33* 遺伝子を同時に破壊すると消失した。さらに、*vps33* 破壊株でも Ssg1-1 タンパク質の量は変化が無かったことから、Ssg1-1 タンパク質の液胞膜における局在がその機能に重要であることが示唆された。

## 結論

Ssg1-1 タンパク質は寿命制御のみならずストレス耐性に関わる因子であることが明らかとなった。また、Ssg1-1 タンパク質は液胞膜で機能することも分かった。本研究から、*SSGI-1* 及び SAM/SAH ホメオスタシスが関与する新規ストレス耐性メカニズムの存在を示唆した。

## 文献

- 1) Thomas, D. and Surdin-Kerjan, Y. (1997) Metabolism of sulfur amino acids in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev* **61**:503-532.
- 2) Mizunuma, M., Miyamura, K., Hirata, D., Yokoyama, H., and Miyakawa, T. (2004) Involvement of S-adenosylmethionine in G1 cell-cycle regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**:6086-6091.
- 3) Ogawa, T. *et al.* (2016) Stimulating S-adenosyl-l-methionine synthesis extends lifespan via activation of AMPK. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**: 11913-11918.

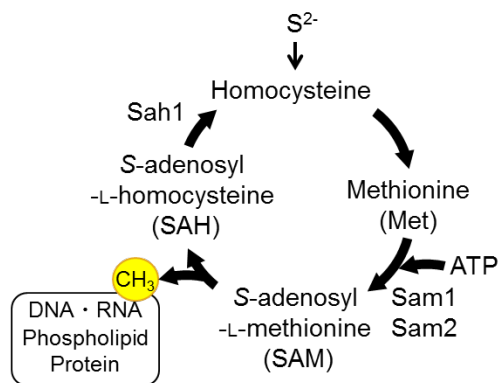


図 1 酵母におけるメチオニン代謝経路図

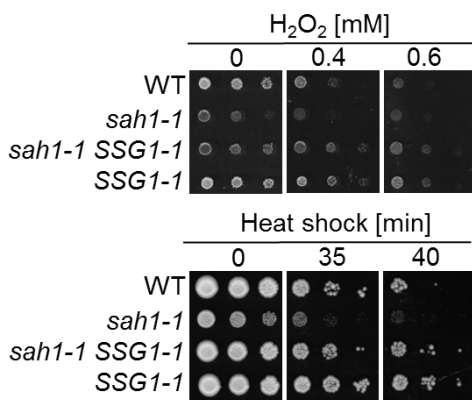


図 2 酸化ストレス (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 及び熱ストレス耐性試験

菌体を  $5 \times 10^7$  cells/ml から 10 倍ずつ希釈し、スポットアッセイを行った。詳細は方法の項目を参照のこと。

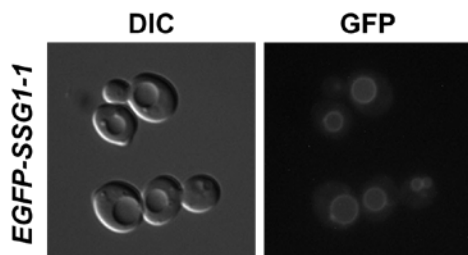


図 3 EGFP-SSG1-1 タンパク質の細胞内局在

SSG1-1 の N 末端に EGFP タグを標識した株を 25°C で培養し、EGFP のシグナルを顕微鏡観察した。